



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza



Trabajo Fin de Grado en Veterinaria

ANÁLISIS TEMPORAL DE LA EFICACIA DEL PROGRAMA DE
ERRADICACIÓN DE LA TUBERCULOSIS BOVINA EN ESPAÑA

Temporal analysis of the effectiveness in the eradication of bovine Tuberculosis
in Spain

Autor/es

Jakes Salgado Asensio

Director/es

Jesús García Sánchez

Facultad de Veterinaria

2022

ÍNDICE

RESUMEN.....	1
ABSTRACT	1
INTRODUCCIÓN	1
JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.....	2
METODOLOGÍA	2
ETIOLOGÍA.....	3
EPIDEMIOLOGÍA.....	3
PATOGENIA	4
CUADRO CLÍNICO Y LESIONAL.....	6
DIAGNÓSTICO	6
1.Detección de la respuesta inmune del hospedador	7
Pruebas diagnósticas de base celular	7
Pruebas diagnósticas de base humoral	9
2. Detección directa del agente etiológico	10
Cultivo microbiológico	10
Métodos de reconocimiento del ácido nucleico	11
PROFILAXIS.....	12
PROGRAMA NACIONAL DE ERRADICACIÓN DE LA TUBERCULOSIS BOVINA (PNETB) EN ESPAÑA	13
1.Base legal y otra documentación oficial	13
2.Estrategias generales	15
3.Objetivos del Programa Nacional de Erradicación	15
4.Población diana.....	16
5.Definición de caso positivo	16
6.Calificaciones sanitarias de la tuberculosis bovina.....	17
7.Vigilancia activa: explotaciones de ganado bovino y caprino a controlar y frecuencia de chequeos.....	17
8.Vigilancia pasiva: sistema de vigilancia en mataderos y Salud Pública	19
9.Movimiento de animales	20
10.Pruebas diagnósticas	21
11.Actuación en caso de rebaños positivos.....	22

12.Sacrificio de animales positivos	23
13.Vaciado sanitario	23
14.Vigilancia de la fauna silvestre.....	23
EVOLUCIÓN DEL PLAN NACIONAL DE ERRADICACIÓN DE LA TUBERCULOSIS BOVINA Y SITUACIÓN ACTUAL EN ESPAÑA.....	24
MEJORAS DE CARA AL FUTURO.....	32
CONCLUSIONES.....	33
CONCLUSIONS	34
VALORACIÓN PERSONAL	34
BIBLIOGRAFÍA.....	34

RESUMEN

La tuberculosis bovina es una enfermedad reemergente, asociada a una infección debida a cualquiera de las especies de micobacterias del Complejo *Mycobacterium tuberculosis* en animales bovinos. En España existe un Plan Nacional de Erradicación de la Tuberculosis Bovina (PNTB) del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA), con el cual se estaba consiguiendo controlar y erradicar la infección, pero en los últimos años ha habido un resurgir de la misma.

En el presente trabajo se realiza la descripción de la enfermedad, así como el estudio de la evolución epidemiológica en España a través del análisis de las prevalencias de rebaños de rumiantes y otros parámetros, evaluando de este modo la eficiencia de la aplicación de programas para el control y la erradicación de la tuberculosis bovina.

ABSTRACT

Bovine tuberculosis is a re-emerging disease, associated with an infection due to any of the mycobacterium species of the *Mycobacterium tuberculosis* complex in bovine animals. Even though the Ministry of Agriculture, Fisheries and Food of the Spanish government promoted a National Program for the Eradication of Bovine Tuberculosis, in recent years there has been a resurgence of this disease in the country.

In the present work, a description of the disease is made, as well as the study of the epidemiological evolution in Spain through the analysis of the prevalence of ruminant herds and other parameters, thus evaluating the efficiency of the application of programs for the control and eradication of bovine tuberculosis.

INTRODUCCIÓN

La tuberculosis bovina es una enfermedad bacteriana infecto-contagiosa, granulomatosa y de curso crónico, causada por el complejo *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC), principalmente por *Mycobacterium bovis*, pero también por *Mycobacterium caprae* y, en menor medida, por *M. tuberculosis* (OMSA, 2022). La enfermedad afecta tanto a animales domésticos y salvajes como a personas (zoonosis). Es un problema de gran impacto en el ámbito de la Sanidad Animal a nivel mundial (Juste, 2015) y causa pérdidas económicas a la ganadería por disminución de la producción, decomisos en matadero y restricciones al movimiento de animales vivos.

Al ser una enfermedad crónica, las primeras manifestaciones clínicas son inespecíficas, tales como una fiebre fluctuante, debilidad, adelgazamiento crónico y una bajada de la producción láctea (Doménech et al., 2017). La transmisión al hombre se produce mediante el contacto estrecho con ganado infectado y el consumo de alimentos animales contaminados, como la

leche sin pasteurizar (Balseiro y Gortázar, 2015).

Las infecciones por el MTBC (*M.bovis*, *M.caprae*, *M. tuberculosis*, etc.) figuran en la Lista de Enfermedades de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OMSA) y son de obligada notificación (OMSA,2022).

A pesar del extraordinario esfuerzo por erradicar la tuberculosis bovina, esta sigue siendo una enfermedad de distribución mundial. La prevalencia más alta de la tuberculosis bovina tiene lugar en África y en ciertas partes de Asia, aunque también se encuentra en países de Europa y América. Los programas nacionales de erradicación y control de la enfermedad se han implementado con éxito en numerosos países, como el enfoque de elección para la gestión de la tuberculosis bovina. No obstante, este enfoque resulta imposible de aplicar en algunos países seriamente infectados, puesto que puede implicar el sacrificio de un gran número de cabezas de ganado, lo que puede no ser viable, debido a las limitaciones financieras o de recursos humanos en programas de sanidad animal, o por razones culturales (OMSA, 2022).

JUSTIFICACION Y OBJETIVOS

El objetivo principal de este trabajo es realizar un estudio de la evolución epidemiológica en España desde que se implantó el Programa Nacional de Erradicación de la Tuberculosis Bovina (PNETB), a través de la información que proporciona anualmente el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA), así como analizar los datos más recientes del MAPA. Otro objetivo es llegar a conclusiones del porqué de este resurgir de la infección y, por último, proponer medidas para mejorar dicho plan.

METODOLOGÍA

El trabajo es una revisión, de modo que la metodología se ha basado en la búsqueda bibliográfica y documental en bases de datos como Dialnet, Alcorze, CSIC, PubMed y Science Direct, entre otros. También se han empleado datos y documentos de organismos oficiales como el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA), Laboratorio de Referencia de la Unión Europea sobre la Tuberculosis bovina (VISAVET), Organización Mundial de Sanidad Animal (OMSA) y su antecesora, la Oficina Internacional de Epizootias (OIE). Las palabras clave utilizadas en la búsqueda han sido combinaciones "AND", "OR" de "tuberculosis", "bovine", "eradication", "epidemiology", "diagnosis", "etiology", "Spain"... Se han revisado publicaciones de los últimos 20 años, aunque en algunos casos se han incluido también trabajos anteriores por contener información relevante y autores importantes.

El género *Mycobacterium* se engloba en el phylum *Actinobacteria*, clase *Actinobacteria*, orden *Actinomycelates*, suborden *Corynebacterineae*, familia *Mycobacteriaceae*, tal y como recoge el *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (Brenner et al., 2005). La tuberculosis bovina está causada por cualquier especie de micobacteria perteneciente al MTBC. El agente etiológico más importante en el ganado bovino es *M.bovis* y en un segundo grado, *M. caprae*, el cual está aceptado como micobacteria independiente desde 2003 (Aranaz et al., 2003).

El MTBC representa uno de los tres grupos del género *Mycobacterium*, junto con *M.leprae* y el grupo de micobacterias no tuberculosas (MNT). Forma parte de una gama de especies de micobacterias que causan tuberculosis en humanos y animales que están muy relacionadas entre sí (99,9% de homogeneidad genética). A pesar de su gran parentesco genético, las especies de MTBC difieren en términos de patogenicidad, distribución geográfica y hospedador preferido. Además, también difieren en algunas características bioquímicas, requisitos de cultivo y marcadores moleculares (Rodríguez-Campos et al., 2014).

En los mamíferos la tuberculosis está causada por miembros MTBC, que son bacilos bacterianos gram-positivos. Los organismos mantenidos en animales incluyen *Mycobacterium bovis* (tuberculosis bovina), *M. caprae* (tuberculosis caprina), *M. pinnipedii*, *M. orygis* y *M. microti*. Pero *M. pinnipedii* y *M. orygis* eran ya miembros de *M. bovis* antes de ser designadas como especies separadas. Otros dos agentes, *M. tuberculosis* y *M. africanum*, se mantienen en humanos, pero ocasionalmente afectan a animales. Un organismo poco conocido, *M. canettii*, solo se ha encontrado en humanos en África, pero no se cree que se mantenga en las personas. Algunos autores también reconocen especies adicionales, como *M. mungi* en mangostas rayadas (*Mungos mungo*) o *M. suricattae* en suricatas (*Suricata suricatta*) (OIE, 2019).

EPIDEMIOLOGIA

M.bovis es una micobacteria extremadamente resistente en el medioambiente, y puede sobrevivir bajo extremas condiciones ambientales (Fine et al,2011). Si a esto añadimos que las principales micobacterias causantes de la TB animal son de crecimiento lento, todo ello les permite mantenerse viables durante largos periodos de tiempo (Balseiro et al., 2020).

Tradicionalmente se ha descrito la vía aerógena como la principal vía de transmisión de la TB, mediante la inhalación de microaerosoles procedentes de secreciones respiratorias de animales infectados (Menzies y Neill, 2000 ;Courtenay et al., 2006), pero también puede transmitirse por contacto directo con terneros infectados (Fitzgerald et al., 2016).

La transmisión oral por vía digestiva también es una importante ruta de infección a otras especies domésticas y a humanos, aunque menos efectiva (Domingo et al., 2014). Los animales se infectan tras tener acceso a excreciones de animales infectados en comederos y bebederos naturales o artificiales (Balseiro et al., 2020). La transmisión a través de la piel y mucosas también está descrita en personas en contacto con animales (veterinarios, cazadores, matarifes, etc) que tuvieron contacto con carcasas de animales infectados (Biet et al., 2005; Wilkins et al., 2003). Excepcionalmente pueden existir otras vías de infección como la genital, la intramamaria o la transplacentaria, pero en los países que están llevando planes de erradicación son muy poco habituales debido a la situación epidemiológica actual (Balseiro et al., 2020).

Entre los factores de riesgo de la TB a nivel individual se encuentra la edad de los animales (animales jóvenes y muy viejos son más susceptibles a la enfermedad), sexo, raza, condición corporal, estado del sistema inmune del animal, la resistencia genética y susceptibilidad individual frente a la tuberculosis bovina. A nivel de rebaño los factores de riesgo son el tamaño de la explotación (a mayor tamaño mayor riesgo), sistema ganadero (mayor riesgo en sistemas extensivos), manejo del rebaño, estado nutricional, movimiento de los animales, y el contacto con otros animales y fauna silvestre (Humblot et al., 2009).

PATOGENIA

La patogenia de la enfermedad es muy compleja y está determinada por diversos factores, entre las que destacan la vía de infección o de inoculación, los factores intrínsecos y extrínsecos derivados del hospedador, virulencia de la cepa y de la dosis del patógeno recibida (Balseiro et al., 2020; Muñoz, 2015).

La vía de infección se ha visto que juega un papel importante, tanto en el tiempo necesario para que se produzca la respuesta inmune celular y la aparición de las lesiones como en la distribución de estas últimas. Esto indica que el tiempo que transcurre desde el momento de la infección hasta la aparición de las lesiones es muy variable (Balseiro et al., 2020).

Los factores intrínsecos y extrínsecos más importantes que afectan al hospedador, y que se encuentran relacionados, son el estado inmune y la edad del animal. Respecto a la edad, los animales mayores han podido estar más expuestos al patógeno a lo largo de su vida, por lo que presentan más probabilidad de ser portadores de una infección latente, lo que, sumado a su edad avanzada y que su sistema inmune está más debilitado, facilitaría que se desencadenase la enfermedad o se diseminase con mayor facilidad una infección, como así se ha demostrado en el tejón (Beirne et al., 2014). Por otro lado, el sistema inmune (aún por evolucionar) de los animales jóvenes permite que, al ser infectados, los animales lleguen a desarrollar lesiones más

graves que en los adultos (Martín-Hernando et al., 2007). El sistema inmune del animal puede verse afectado por diversas causas (momentos próximos al parto, coinfecciones, estrés, malnutrición), generando así mayores posibilidades de infección y diseminación del patógeno (Muñoz, 2015). Se ha comprobado que la alimentación equilibrada garantiza un mejor desarrollo del sistema inmune, y que las carencias de Zinc y vitamina D perjudican la actividad de los macrófagos y la generación de linfocitos (Hewison, 2011). La inmunidad celular puede controlar la infección en la entrada del organismo, pero su pérdida implica la diseminación de la infección en el organismo y la posibilidad de aparición de lesiones con posibilidad de excreción de bacilos hacia el exterior (Muñoz, 2015).

M. bovis tiene la capacidad para evadir y manipular la respuesta inmune del hospedador. Tras la entrada de *M. bovis* al organismo, las células dendríticas son las que reconocen la bacteria y activan la respuesta inflamatoria. Una parte de esta respuesta inflamatoria es de tipo Th1, en la que los linfocitos T son capaces de producir γ -IFN y activar los macrófagos. En ese momento las micobacterias son fagocitadas y los neutrófilos son atraídos y se acumulan en el lugar de la infección inicial (Arentz & Hawn, 2007; Pollock et al., 2006). Así es como se forma el “foco primario”. A través de los vasos linfáticos la infección alcanza el nódulo linfático de drenaje y se formaría el “complejo primario completo”. En el caso de no observarse la lesión inicial pero sí la del nódulo linfático regional se hablaría de “complejo primario incompleto”. A partir de este punto la infección puede seguir diferentes caminos como son la curación y la latencia si los animales tienen una respuesta inmune celular potente, o la generalización precoz a través de su diseminación por vía linfohematógena. Todo este proceso estaría englobado en el denominado “periodo primario”. De aquí en adelante y como resultado de una reinfección o de la exacerbación de las formas de latencia, podría darse el desarrollo de formas lesionales dentro de lo que se conoce como “periodo post-primario”.

Finalmente, hay quien considera que en cualquiera de los dos periodos pueden desencadenarse las “formas de ruptura”. Estas formas se producen debido a una respuesta inmune ineficaz causada por deficiencias en la dieta, estrés, cambios hormonales, otras infecciones concomitantes o mayor susceptibilidad genética, entre otras. Las formas de anergia son las grandes desconocidas en la patogenia de la TB y pueden desempeñar un papel importante en la dinámica de la infección (Pollock y Neill, 2002) y, por tanto, en el éxito de los programas de erradicación (Balseiro et al., 2020).

CUADRO CLÍNICO Y LESIONAL

En muchos casos el curso de la infección es crónico y pueden no observarse signos clínicos, ni siquiera en casos avanzados en los que puede haber muchos órganos afectados. Cuando nos encontramos con signos clínicos, estos varían; la afectación pulmonar podría manifestarse por tos. La disnea y otros signos de neumonía de grado bajo también constituyen un indicio de afectación pulmonar (OIE, 2018).

Cuando los casos están más avanzados, los nódulos linfáticos pueden estar aumentados de tamaño y obstruir las vías respiratorias, el tracto digestivo o vasos sanguíneos. Los nódulos linfáticos de la cabeza y el cuello podrían ser los más habitualmente afectados. La afectación del tracto digestivo se manifiesta por una diarrea intermitente y constipación en algunos casos. También puede producirse emaciación extrema y dificultad respiratoria aguda durante las fases terminales de la tuberculosis, y aparecer lesiones que afecten a los genitales en las hembras (muy raro en machos) (OIE, 2018).

En la necropsia es más frecuente observar tubérculos en los nódulos linfáticos bronquiales, mediastínicos, retrofaríngeos y portales. Además, es frecuente observar afectación pulmonar, hepática, esplénica y de las superficies de las cavidades del organismo. Mediante palpación, a menudo pueden hallarse lesiones pulmonares nodulares tempranas. Las lesiones suelen ser no dolorosas. Asimismo pueden estar afectados otros puntos anatómicos que también deberán explorarse (OIE, 2018).

Macroscópicamente, un granuloma tuberculoso suele ser amarillento y de consistencia caseosa, caseosa-calcárea o calcificada. En ocasiones, puede tener aspecto purulento. Algunos granulomas no tuberculosos podrían no ser macroscópicamente diferenciables de granulomas tuberculosos. El centro caseoso suele ser seco y duro, y estar cubierto por una cápsula de tejido conjuntivo fibroso de espesor variable. El tamaño de la lesión puede ser lo bastante pequeño como para pasar desapercibida a simple vista, y hasta lo bastante grande como para afectar a la mayor parte de un órgano. Puede ser necesario realizar cortes seriados de los órganos y tejidos para detectar lesiones pequeñas que se encuentren en el interior del tejido (OIE, 2018).

DIAGNÓSTICO

El objetivo del diagnóstico oficial de la tuberculosis en animales se basa en la detección de la respuesta inmune de base celular que se desencadena ante la infección, y en la detección directa del agente etiológico utilizando técnicas histopatológicas, microbiológicas y moleculares. Lo importante para alcanzar el objetivo de la erradicación de la tuberculosis es la rápida detección

de animales infectados, por lo que es determinante buscar la mayor sensibilidad (Se) en las pruebas diagnósticas a utilizar, refiriéndonos a la Se como la proporción de animales infectados detectados como positivos en el ensayo diagnóstico. Además de la Se, también buscamos la mayor especificidad (Sp) posible, siendo la Sp la proporción de animales no infectados que se identifican correctamente como negativos mediante una prueba de diagnóstico.

1. DETECCIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE DEL HOSPEDADOR

a) Pruebas diagnósticas de base celular

IDTBS

La intradermotuberculinización simple (IDTBS) es la prueba de rutina prioritaria *in vivo* en las explotaciones. Se utiliza en rebaños no libres de infección de alta prevalencia (>1%). También se utiliza en caprino, ovino y especies salvajes. Su fundamento se basa en la detección de la respuesta inmune celular, más concretamente en la hipersensibilidad de tipo retardado que se produce a nivel local, tras la aplicación intradérmica de un antígeno (PPD bovina 2000 UI/0,1ml) en los animales sensibilizados previamente frente a este antígeno. Se considera una técnica con una Sp y una Se media del 96,8% y del 83,9%, respectivamente, según una revisión de los estudios realizados al respecto (de la Rúa-Domenech et al., 2006).

El valor de Se puede estar sometido a la influencia de ciertos factores como una aplicación o medición incorrecta de la prueba, falta de potencia o dosis insuficiente de tuberculina, errónea localización de punto de inyección... (Lepper et al., 1977; Monaghan et al., 1994). Además hay que tener en cuenta que es posible encontrar en matadero animales con TB generalizada que no son detectados por esta técnica debido a que ya no presentan respuesta inmune celular detectable; son los denominados anérgicos (Lepper et al., 1977; Pollock y Neill, 2002). Los animales anérgicos también pueden aparecer por situaciones prolongadas de estrés y en enfermedades crónicas (Pollock y Neill, 2002).

La interpretación de las reacciones se basará en observaciones clínicas y en el aumento de grosor de los pliegues de piel en los puntos de inyección, anotados 72 horas después de haber inyectado la tuberculina (RD 1047/2003). Dichas reacciones se clasifican como:

- a) Reacción negativa: sólo se observa una hinchazón limitada, con un aumento del grosor del pliegue de piel no superior a 2 mm, sin signos clínicos tales como edema difuso o extensivo, exudación, necrosis, dolor o inflamación de los conductos linfáticos de esa región o de los nódulos linfáticos.
- b) Reacción dudosa: no se observa ninguno de los signos clínicos mencionados en el párrafo a) y el aumento de grosor del pliegue de piel es superior a 2 mm e inferior a 4.

- c) Reacción positiva: se observan signos clínicos de los mencionados en el párrafo a) o el grosor del pliegue de piel del punto de inyección aumenta hasta 4 mm o más.

Se han utilizado diferentes puntos de inoculación de la tuberculina (cuello, cola, parpado, membrana palpebral, vulva, etc), pero finalmente se seleccionó el cuello como lugar de inyección de tuberculina debido a los valores más altos de sensibilidad y especificidad en bovinos en comparación con el pliegue de la cola (Good y Duignan, 2011).

Los animales en los que la IDTBS haya dado resultados dudosos serán sometidos a otra tuberculinización después de un plazo mínimo de 42 días. Esto es debido a que, después de la inyección intradérmica de tuberculina en bovinos infectados la reactividad de la piel a una segunda inyección disminuye durante algún tiempo, lo cual se conoce como desensibilización (de la Rúa-Domenech et al., 2006). En animales en los que esta segunda prueba no dé resultados negativos se considerarán positivos. Los animales en los que la IDTBS dé resultados positivos podrán someterse a una IDTBC si se sospecha la existencia de una reacción (RD 1047/2003, BOE).

IDTBC

La intradematuberculinización comparada (IDTBC) se utiliza como diagnóstico diferencial con infecciones por otras micobacterias. Como se explica en la prueba anterior de la IDTBS, hay una pequeña falta de Sp de la prueba, la cual puede estar influenciada por las reacciones cruzadas con otras micobacterias próximas a *M. bovis* y *M. caprae*, en muchas ocasiones pertenecientes al Complejo Mycobacterium Avium (MAC). En estos casos, cuando encontramos explotaciones con animales reaccionantes en las que no se consigue confirmar la TB, es aconsejable recurrir a la IDTBC. Esta prueba consiste en la aplicación de un antígeno bovino y otro aviar para poder diferenciar cuál es la respuesta predominante. La IDTBC es capaz de mejorar los valores de Sp, pero hay algunos estudios que señalan cierta pérdida de Se, por lo que su utilización no siempre estaría justificada y habrá que valorar la situación epidemiológica en la que se encuentre la zona. En España se utiliza en rebaños T3 con animales positivos o dudosos en IDTBS para la detección de falsos positivos.

La interpretación oficial de la IDTBC para la determinación y el mantenimiento de la calificación de explotación oficialmente libre de tuberculosis es (RD 1047/2003):

- a) Positiva: reacción bovina positiva que sea superior en más de 4 mm a la reacción aviar, o presencia de signos clínicos.
- b) Dudosa: reacción bovina positiva o dudosa que sea de 1 a 4 mm superior a la reacción aviar, y ausencia de signos clínicos.

- c) Negativa: reacción bovina negativa, o reacción bovina positiva o dudosa pero que sea igual o inferior a una reacción aviar positiva o dudosa, y ausencia de signos clínicos en ambos casos.

Los animales en los que la IDTB haya dado resultados dudosos deberán ser sometidos a otra tuberculización transcurrido un plazo mínimo de 42 días. Los animales en los que esta segunda prueba no dé resultados negativos se considerarán positivos (RD 1047/2003).

GAMMA INTERFERON *in vitro*

La detección del γ -IFN *in vitro* es una técnica de rutina recientemente añadida al Programa Nacional de Erradicación, la cual se realiza en animales de más de 6 meses, y debe hacerse con una separación mínima de 60 días tras la prueba de IDTB. Esta prueba incrementa la Se de detección de la infección y se realiza a partir de muestras de sangre heparinizada (Balseiro Morales et al., 2020). El γ -IFN es una citoquina liberada predominantemente por los linfocitos T después de la estimulación antigénica. Tiene un papel importante en la respuesta inmune a las micobacterias tuberculosas, siendo el principal factor de activación de los macrófagos (Pollock et al., 2005).

Brevemente, la prueba de γ -IFN se realiza *in vitro* en dos etapas. En primer lugar, las muestras de sangre entera heparinizada recogidas en la granja se transportan a un laboratorio inmediatamente después del muestreo. Se incuban pequeñas alícuotas, idealmente dentro de las 8h siguientes (Buddle et al., 2001; Ryan et al., 2000) a 37 °C en presencia de antígenos de prueba (típicamente tuberculina PPD bovina y tuberculina PPD aviar) y un control de antígeno nulo (negativo). Después de 16-24h de incubación, se recogen los sobrenadantes de plasma. La segunda fase consiste en la cuantificación mediante un ensayo inmunoenzimático (ELISA) del IFN- γ producido. La presencia significativa (PPDB/PPDA) de γ -IFN en la muestra indica infección.

Se trata de una técnica con unos valores medios de Sp y Se del 96,6% y 87,6%, respectivamente (de la Rúa-Domenech et al., 2006). Se considera que el ensayo de γ -IFN es al menos tan Se como la prueba de la IDTB. Y lo que es más importante, detectará una proporción sustancial de ganado infectado que escapa a la detección mediante la prueba de la tuberculina (Monaghan et al., 1997; Pollock et al., 2005). La razón más probable de esto es que la prueba de γ -IFN identifica a los animales en una etapa más temprana de la infección que la IDTB (Pollock et al., 2005).

b) Pruebas diagnósticas de base humoral

ELISA

La detección de anticuerpos mediante la técnica ELISA puede ser considerada una técnica complementaria y muy recomendable cuando se detecta la tuberculosis bovina por primera vez

en una explotación. En ese momento es posible que haya animales en diferentes estadios de la infección, y en algunos de ellos puede haber desaparecido la respuesta celular pero no la humoral (Welsh et al., 2005). Se basa en la detección de anticuerpos específicos en suero, plasma o leche (Zhu et al., 2022). Los valores de Se y Sp no son altos, pero su gran interés es la capacidad para detectar, en base a la respuesta celular, al menos una parte de los animales considerados anérgicos. Sin embargo, han surgido nuevas pruebas basadas en proteínas recombinantes definidas que se utilizaron como antígenos (Casal et al., 2014). Dado que la cinética de la respuesta de anticuerpos en presencia de diferentes antígenos de *M. bovis* es variable en la fase de infección (Lyashchenko et al., 1998; Waters et al., 2006), se espera que la combinación de antígenos recombinantes permita la detección de anticuerpos en diferentes etapas de la infección por *M. bovis* (Souza et al., 2012). Los antígenos recombinantes con mayor nivel de detección serológica, y por ello los más utilizados, son el MPB70 y MPB83 (Casal et al., 2014).

2. DETECCIÓN DIRECTA DEL AGENTE ETIOLÓGICO

a) Cultivo microbiológico

El cultivo microbiológico forma parte de las técnicas oficiales de diagnóstico, siendo la prueba de referencia “gold standard”. El objetivo de esta prueba es confirmar la infección en casos diagnosticados *in vivo* sacrificados, además de identificar la especie de micobacteria y posterior caracterización molecular, para trazar el origen y relaciones epidemiológicas de la infección. El mayor inconveniente de esta prueba es que las bacterias del MTBC, como ya se ha mencionado anteriormente, tienen un crecimiento extremadamente lento, con un periodo óptimo de incubación de 12 semanas (Corner et al., 2012) y su Se no es muy alta.

Cabe destacar que esta prueba no tiene falsos positivos. El cultivo positivo confirma la presencia del agente patógeno, pero la ausencia de crecimiento de micobacterias no descarta la infección en el animal muestreado. La tasa de aislamiento mediante cultivo bacteriológico a partir de muestras de animales que están realmente infectados puede ser baja, pues depende de multitud de factores, relacionados tanto con el animal (fase de la infección, carga bacteriana, etc.) como con la inspección y muestreo en actividades cinegéticas y en el matadero, inspección que ha de ser lo más completa posible (Muñoz, 2015). Las cepas de *M. bovis* obtenidas mediante cultivo se extraen para ser sometidas a métodos de reconocimiento del ácido nucleico, lo que permite identificarlas.

b) Métodos de reconocimiento del ácido nucleico

• PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa)

Una posible alternativa al cultivo microbiológico es la PCR directa en tejido. En un estudio realizado por Courcoul en 2014 se demostró que la PCR es más Se (87,7%) que la bacteriología y tiene una buena Sp (97%). Esto hace que la PCR sea una herramienta útil que podría convertirse en una prueba oficial de diagnóstico de la tuberculosis bovina en la UE (Courcoul et al, 2014). La PCR permite confirmar la infección en menos de 48 horas, por lo que es una buena prueba de confirmación para los programas de vigilancia y control de la tuberculosis (Courcoul et al, 2014). A pesar del uso de la PCR como herramienta de detección del MTBC, en los últimos años se han desarrollado diversos métodos moleculares en muestras biológicas y ambientales.

• Espoligotipado

El espoligotipado (direct variable oligonucleotide typing) es un método rápido basado en la reacción en cadena de la polimerasa para el genotipado de cepas del MTBC. Los patrones de espoligotipado pueden representarse en términos absolutos (digitalmente), y los resultados pueden compartirse fácilmente entre laboratorios, lo que permite la creación de grandes bases de datos internacionales. Desde que se estandarizó el ensayo de espoligotipado, se han analizado decenas de miles de aislados, lo que ha permitido obtener una imagen global de la diversidad de cepas de MTBC. El método es altamente reproducible y se ha convertido en un ensayo de alto rendimiento para grandes proyectos de epidemiología molecular (VISAVET, 2022).

• La amplificación isotérmica mediada por bucle o LAMP

La amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP) es un método novedoso de amplificación de secuencias de ácidos nucleicos (Notomi et al., 2000) que se ha aplicado para la detección de micobacterias. En un ensayo se evaluó la técnica LAMP como un nuevo método para *M. bovis* en el esputo de los bovinos y se comprobó que es mucho más Se, Sp, económico y rápido que los métodos convencionales de PCR. Lo más importante es que el ensayo puede realizarse en un laboratorio clínico de relativamente baja tecnología, sin acceso a equipos especializados (Zhang et al., 2011). La LAMP puede ser de gran utilidad, por ejemplo, para realizar estudios sobre poblaciones silvestres en condiciones de campo si se combina con un método portátil específico de identificación de los productos de amplificación (Costa et al., 2014).

• La secuenciación masiva

La secuenciación masiva de genomas (Whole Genome Sequencing, WSG) es indudablemente una de las metodologías que más posibilidades ofrece para caracterizar los microorganismos del

MTBC. La WGS se refiere a un conjunto de técnicas laboratoriales que permiten conocer la composición genética completa de un individuo. Mediante equipos altamente especializados y automatizados se llevan a cabo millones de reacciones de secuenciación en paralelo, generándose así grandes cantidades de datos en muy poco tiempo. Tras el proceso de secuenciación se procede a la unión de las secuencias o lecturas entre sí para reconstruir el genoma completo del organismo en cuestión (Balseiro et al., 2020).

Una vez se conoce la secuencia completa, pueden detectarse las diferencias genéticas existentes entre distintos aislados. Dado que es posible analizar cientos o miles de posiciones a la vez, se consigue una mayor resolución que con las técnicas moleculares descritas anteriormente, permitiendo establecer relaciones filogenéticas mucho más precisas. Además de detectar diferencias de secuencia entre aislados, existen cientos de aplicaciones distintas para los datos genómicos, pudiendo emplearse algoritmos bioinformáticos para determinar la composición génica de un genoma, detectar factores de virulencia, genes de resistencia a antibióticos, marcadores genéticos, etc (Balseiro et al., 2020).

Si bien es cierto que las tecnologías anteriores pueden suponer un avance en el diagnóstico de la TB animal, hoy en día los costes asociados a estas técnicas son demasiado elevados y su utilidad real aún está por demostrar mediante un número mayor de estudios científicos. Debido a esto, la mayoría de los esfuerzos en investigación se centran en aumentar la Se y Sp de la PCR en tiempo real, así como en facilitar su uso y reducir sus costes, con el propósito de detectar o descartar de forma rápida y fiable la presencia del MTBC en los animales o en el ambiente (Balseiro et al., 2020).

PROFILAXIS

El principal pilar de la profilaxis sanitaria son los programas de erradicación, cuya actuación más destacada es la detección de animales infectados y su posterior sacrificio, además de la toma de muestras e identificación de lesiones para la identificación del agente.

Los programas de erradicación de la enfermedad han sido eficaces a la hora de reducir o eliminar la enfermedad en el ganado, empleando un acercamiento de múltiples facetas que incluye medidas profilácticas, como son la inspección *post mortem* de la carne, para la detección de animales y rebaños infectados, vigilancia intensiva incluyendo visitas a las explotaciones, pruebas individuales sistemáticas del ganado bovino, eliminación de animales infectados y en contacto con ellos, legislación local adecuada, controles eficaces de desplazamientos, identificación animal individual y una trazabilidad eficaz (OMSA,2022).

Actualmente, la única vacuna disponible contra infecciones por *M. bovis* es la bacillus Calmette-guerin (BCG), que es una cepa viva atenuada de *M. bovis*. Pero en España, debido a que se están implementando medidas de control basadas en el uso de tuberculina como antígeno diagnóstico, está prohibido su uso en el ganado debido a que la vacuna puede interferir en el diagnóstico. Sin embargo se ha avanzado considerablemente en el desarrollo de los denominados antígenos DIVA (differentiate infected from vaccinated animals), que permiten discriminar entre animales vacunados con la BCG y animales infectados por *M. bovis*, sobre todo cuando se utilizan en la prueba del interferón gamma (Buddle et al., 1999; Sidders et al., 2008). Por lo tanto se puede prever que la vacunación con BCG podría aplicarse junto con estas pruebas DIVA una vez estos reactivos se hayan validado por completo y el marco legal de trabajo se haya adaptado como corresponda. Las vacunas BCG también podrían utilizarse para reducir la propagación de *M. bovis* en reservorios de infección de fauna salvaje (OIE, 2018).

PROGRAMA NACIONAL DE ERRADICACIÓN DE LA TUBERCULOSIS BOVINA (PNETB) EN ESPAÑA

1. BASE LEGAL Y OTRA DOCUMENTACIÓN OFICIAL

La base legal para la erradicación de la tuberculosis bovina es muy amplia, y debe tener en cuenta la normativa aplicable a los diferentes niveles administrativos: autonómico, nacional, comunitario e internacional.

En el seno de la Unión Europea la normativa aplicable desde el 21/04/2021 es la siguiente:

- El Reglamento (UE) 2016/429, relativo a las enfermedades transmisibles de los animales.
- El Reglamento Delegado (UE) 2020/689 por el que se completa el Reglamento (UE) 2016/429 en lo referente a las normas de vigilancia, los programas de erradicación y el estatus de libre de enfermedad con respecto a determinadas enfermedades de la lista y enfermedades emergentes.
- El Reglamento Delegado (UE) 2020/688, por el que se completa el Reglamento (UE) 2016/429 en lo referente a los requisitos zoonosarios para los desplazamientos dentro de la Unión de animales terrestres y de huevos para incubar.
- “Paquete de higiene”, compuesto por los Reglamentos (CE) 852/2004, 853/2004 y 882/2004, y sus modificaciones, relativos a la higiene de los productos alimenticios, la higiene de los alimentos de origen animal, y los controles oficiales para garantizar la verificación del cumplimiento de la legislación en materia de piensos y alimentos y la normativa sobre salud animal y bienestar de los animales.

- Este último reglamento se ha derogado por el Reglamento 625/2017 relativo a los controles y otras actividades oficiales realizados para garantizar la aplicación de la legislación sobre alimentos y piensos, y la aplicación de las normas sobre salud y bienestar de los animales, sanidad vegetal y productos fitosanitarios.

A escala nacional:

- Ley 8/2003, de sanidad animal, y el Real Decreto 2611/1996, y sus modificaciones, por el que se regulan los programas nacionales de erradicación de enfermedades de los animales.
- Real Decreto 1047/2003, por el que se modifica el RD 2611/1996, por el que se regulan los programas nacionales de erradicación de enfermedades de los animales.
- Real Decreto 1440/2001, por el que se establece el sistema de alerta sanitaria veterinaria.
- Real Decreto 526/2014, por el que se establece la lista de las enfermedades de los animales de declaración obligatoria y se regula su notificación.
- Real Decreto 867/2020, por el que se regulan los productos zoonosarios de reactivos de diagnóstico de uso veterinario, los sistemas de control de parámetros fisiológicos en animales y los productos destinados al mantenimiento del material reproductivo animal.

Otra documentación oficial

- Programa Nacional de Erradicación de la Tuberculosis Bovina 2022-2030. MAPA.
- Programa Nacional de Erradicación de la Tuberculosis Bovina 2022. MAPA.
- Movimientos de animales permitidos en establecimientos de cebo según su situación sanitaria frente a CMT en 2022. MAPA.
- Manual para la realización de estudios histopatológicos, inmunohistoquímicos y de PCR directa de tejidos para el diagnóstico rápido de la tuberculosis bovina por el complejo *Mycobacterium Tuberculosis* (CMT). MAPA.
- Encuesta epidemiológica para investigación de sospecha o confirmación de brotes de Tuberculosis bovina, Brucelosis bovina y Brucelosis ovina y caprina. MAPA.
- Protocolo de utilización e informe de valoración del uso de pistolas de inoculación intradérmica. MAPA.
- Manual de procedimiento para la realización de las pruebas de intradermotuberculinización y gamma-interferón. MAPA.
- Manual de procedimiento para la toma y envío de muestras para el cultivo microbiológico de Tuberculosis. MAPA.
- Protocolo de actuación del componente de vigilancia en mataderos de la tuberculosis bovina en el marco del Programa Nacional de Erradicación. MAPA.

2. ESTRATEGIAS GENERALES

La principal estrategia del PNETB es la realización de pruebas diagnósticas en animales a partir de las 6 semanas de edad en el caso de la IDTB, y a partir de los 6 meses en el caso de la prueba del γ -IFN; y posterior sacrificio obligatorio de los animales positivos y de los considerados como tales por la autoridad competente. En función de la prevalencia en la comunidad autónoma u otras razones de índole sanitaria se podrá o deberá ampliar el sacrificio mediante la realización del vaciado sanitario del establecimiento (MAPA, 2022).

Se toman medidas profilácticas sobre los establecimientos en los que se han detectado bovinos reaccionantes positivos, implicando tanto a las instalaciones como a los pastos, y se controlan exhaustivamente los movimientos y reposición de estos establecimientos, así como la intensificación de las pruebas diagnósticas para elevar con la mayor brevedad posible su calificación sanitaria. Se realizan chequeos previos a los movimientos de animales, con algunas excepciones, con el objetivo de proteger a los rebaños libres de enfermedad. También se establecen medidas de control sobre posibles reservorios silvestres de acuerdo con el Plan de Actuación sobre Tuberculosis en Especies Silvestres (PATUBES) (MAPA, 2022).

La formación de los nuevos veterinarios es clave para que comiencen a realizar las pruebas de diagnóstico. También se ofrecen cursos de actualización para los veterinarios que realizaron el curso de validación hace más de 3 o 5 años, según corresponda (MAPA, 2022).

Por último, otra estrategia es el cumplimiento del Protocolo de actuación del componente de vigilancia en mataderos de la tuberculosis bovina (MAPAMA, 2017b), lo cual facilita la detección de animales infectados y evita que la carne contaminada ingrese en la cadena alimentaria y permite a los servicios veterinarios rastrear el rebaño de origen del animal infectado, que luego puede someterse a pruebas diagnósticas y eliminarse si es necesario (OMSA, 2022).

3. OBJETIVOS DEL PROGRAMA NACIONAL DE ERRADICACIÓN

El objetivo principal es la erradicación de la enfermedad conforme a los criterios siguientes:

- La tasa de incidencia de establecimientos confirmados como infectados no debe ser superior al 0,1% en los últimos 3 años.
- El mantenimiento de la calificación oficialmente libre en al menos un 99,8% de establecimientos en los 3 últimos años.
- El programa de vigilancia de los últimos 3 años ha incluido la vigilancia *ante* y *post-mortem* de todos los bovinos sacrificados mediante la búsqueda sistemática e investigación de lesiones compatibles.

El objetivo de alcanzar la erradicación se plantea para el año 2030, considerando como tal el lograr una tasa de incidencia de establecimientos confirmados como infectados por el complejo M. tuberculosis no superior al 0,1% en ese año en todo el país. Los objetivos intermedios a nivel nacional se plantean de acuerdo con el Programa de Trabajo Plurianual 2021-2027 para los programas co-financiados de la Comisión Europea, con el objetivo de alcanzar desde 2022 hasta 2030 una reducción anual de la prevalencia de rebaño de al menos el 20% y de la incidencia de rebaño de al menos el 20% respecto a las obtenidas dos años antes (MAPA, 2022).

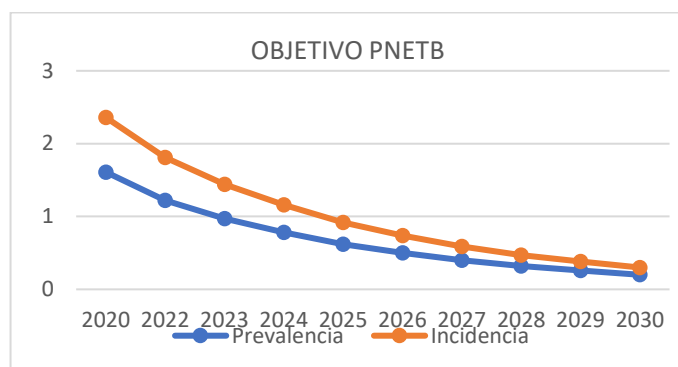


Ilustración 1 Objetivo del PNETB respecto a la prevalencia e incidencia para el año 2030. (Adaptado del MAPA,2022)

4. POBLACIÓN DIANA

El PNETB se aplicará en todos los establecimientos que mantengan animales de la especie bovina (incluidos bisontes y búfalos) destinados a reproducción, producción de carne, leche u otras producciones (trabajo, certámenes o exposiciones), incluidas todas aquellas unidades de cebo calificadas T3 o en fase de calificación como T3. El resto de las unidades de cebo no calificadas se irán progresivamente incorporando al programa de calificación como T3, de forma que para el año 2030 al menos el 99,8% de todos los establecimientos del país hayan obtenido el estatuto T3 (MAPA, 2022).

El programa también se desarrolla para todos los establecimientos de ganado caprino que conviven o mantienen una relación epidemiológica con rebaños de bovino (MAPA,2022).

Las actuaciones en animales domésticos se complementan con un programa de vigilancia y control sobre la fauna silvestre a través del Plan de Actuación sobre Tuberculosis en Especies Silvestres (PATUBES), que comprende propuestas de medidas concretas a aplicar en función de la clasificación de las distintas regiones de acuerdo con su situación epidemiológica de riesgo (MAPAMA, 2017a).

5. DEFINICIÓN DE CASO POSITIVO

De acuerdo con el RD 2611/1996 y posteriores modificaciones, un establecimiento se considera caso, si en él al menos un animal susceptible de ser examinado por su edad no ha superado

alguna de las pruebas oficiales (tanto de rutina como complementarias) con resultado favorable, o no ha sido sometido a alguna de las pruebas de diagnóstico previstas en el Anexo III del Reglamento (UE) 2020/689 (MAPA, 2022).

6. CALIFICACIONES SANITARIAS DE LA TUBERCULOSIS BOVINA

En lo que se refiere a tuberculosis bovina, en el RD 2611/1996 y en el RD 1047/2003 se establecen las siguientes calificaciones sanitarias:

- a) Explotaciones bovinas del tipo T1: Las explotaciones en las que se desconocen los antecedentes clínicos y la situación en cuanto a la reacción a la tuberculina.
- b) Explotaciones bovinas del tipo T2: Las explotaciones en las que se conocen los antecedentes clínicos, la situación en cuanto a la reacción de la tuberculina y en las que se efectúan pruebas de control de rutina para hacer pasar a dichas explotaciones al tipo T3.

Dentro de las explotaciones bovinas de tipo T2 encontramos dos tipos:

- a. T2-: Explotación en la que sin haberse alcanzado aún la calificación de oficialmente indemne de tuberculosis bovina, todo el censo de la explotación, susceptible por su edad de ser examinado, haya superado, con resultado favorable, al menos una de las pruebas de diagnóstico.
 - b. T2+: explotación en la que sin haberse alcanzado aún la calificación de oficialmente indemne de tuberculosis bovina, al menos un animal, susceptible por su edad de ser examinado, no haya sido sometido a la totalidad de las pruebas de diagnóstico previstas.
- c) Explotaciones bovinas del tipo T3: Las explotaciones oficialmente indemnes de tuberculosis.
 - a. TS: explotación de tipo T3 a la que se ha suspendido la calificación sanitaria.
 - b. TR: explotación de tipo T3 a la que se ha retirado la calificación sanitaria.

Adicionalmente se define como rebaño o establecimiento T3H aquel que al menos en los 3 últimos años mantuvo de forma ininterrumpida el estatuto T3 sin que se le haya retirado.

7. VIGILANCIA ACTIVA: EXPLOTACIONES DE GANADO BOVINO Y CAPRINO A CONTROLAR Y FRECUENCIA DE CHEQUEOS

La frecuencia de chequeos del PNETB en las comunidades autónomas (CCAA) con prevalencia de rebaño 0% y CCAA y provincias oficialmente indemnes de MTBC, es de un chequeo anual de una muestra representativa de los establecimientos bovinos, que permita demostrar una tasa anual de incidencia de establecimientos confirmados como infectados por el MTBC no superior

al 0,1% y el mantenimiento de la calificación oficialmente libre en al menos un 99,8% de establecimientos que comprendan al menos un 99,9% de los animales (MAPA, 2022).

En las CCAA con un rango de prevalencia de rebaño inferior a 1% o de “baja prevalencia”, en las provincias que hayan mantenido la prevalencia de rebaños por debajo del 1% durante dos años consecutivos, la autoridad competente podrá ampliar a dos años (24 meses) el intervalo entre las pruebas de mantenimiento a los establecimientos T3H, siempre que en dichas provincias el 100% de los rebaños objetivo se encuentren incluidos en el PNETB. No se podrá ampliar dicho intervalo en el caso de establecimientos de lidia, de recría de novillas en común, de operadores comerciales de animales destinados a la reproducción, de establecimientos de reproducción que tengan como titular a un operador comercial, que tengan antecedentes de infección sin haber realizado vaciado sanitario, que incorporen animales de zonas de prevalencia superior al 1%, que utilicen pastos de aprovechamiento en común (incluidos montes de uso común), que realicen la trashumancia, que participen en exposiciones o concursos de ganado, que tengan un porcentaje de entrada de animales superior al 10% de su censo en el año anterior, con un mínimo de 10 animales, o cualquier otro establecimiento que la autoridad competente considere de riesgo (MAPA, 2022).

En establecimientos bovinos T3 y T3H se realizará, como mínimo, una prueba de mantenimiento anual en todos los animales, salvo en aquellas CCAA que decidan aplicar el mantenimiento cada dos años. En establecimientos bovinos T2 y TR se realizarán, como mínimo, de 2 chequeos al año.

Respecto a las Comunidades Autónomas con un rango de prevalencia de rebaño superior al 1% o de “alta prevalencia”, se establece lo siguiente:

- En las CCAA que el año anterior estaban en el rango de prevalencia inferior al 1%, podrán seguir aplicando sobre los rebaños T3H lo estipulado para estos establecimientos en las CCAA de baja prevalencia, es decir, una prueba al año en establecimientos T3 y T2H, y dos pruebas al año en establecimientos T2 Y TR .

Adicionalmente los establecimientos de aptitud reproductora ubicados en comarcas o unidad veterinaria locales (UVL) cuya prevalencia de rebaño en 2021 haya sido superior al 3% deberán aumentar su frecuencia de pruebas rutinarias de mantenimiento a 2 pruebas anuales, con un intervalo entre ellas de un mínimo de 4 meses y un máximo de 6. En los establecimientos bovinos T2 y TR de las CCAA de alta prevalencia se realizarán, como mínimo, tres chequeos al año mientras el rebaño siga siendo positivo (MAPA, 2022).

Las CCAA podrán declarar “Zona de Especial Incidencia” (ZEI) aquellas comarcas o UVLs con prevalencia de rebaños superior al 3%. En ellas se aplicará un aumento en los chequeos rutinarios sobre los rebaños T3 y/o T3H mediante dos pruebas anuales (MAPA, 2022).

Se llevarán a cabo pruebas oficiales de diagnóstico en aquellos rebaños de caprino que conviven, aprovechan pastos comunes, o mantienen relación epidemiológica con rebaños de ganado bovino. En el resto de los rebaños de caprino incluidos en programas de las comunidades autónomas, cada CCAA determinará el régimen de frecuencias y pruebas a realizar, de acuerdo con el “Manual para el control de la infección por el CMT en establecimientos de ganado caprino incluidos en el programa nacional de erradicación del CMT 2021” (MAPA, 2021b, 2022).

8. VIGILANCIA PASIVA: SISTEMA DE VIGILANCIA EN MATADEROS Y SALUD PÚBLICA

En cuanto a la vigilancia pasiva, será de aplicación lo establecido en el Protocolo de Actuación del componente de vigilancia en mataderos de la tuberculosis bovina en el marco del Programa Nacional de Erradicación, Coordinación entre las autoridades competentes de sanidad animal y seguridad alimentaria (salud pública) (MAPAMA, 2017b). Independientemente de la calificación sanitaria del rebaño de origen de los animales, los sistemas de vigilancia y control a nivel de granja deben ser necesariamente complementados con un sistema de vigilancia en matadero de los animales sacrificados de rutina para consumo humano (MAPA, 2022).

Las autoridades competentes en Sanidad Animal comunicarán en un plazo máximo de 2 días los casos sospechosos de tuberculosis que identifique el Servicio Veterinario Oficial de Salud Pública durante la inspección *post-mortem* de los animales sacrificados de rutina y la toma de muestras correspondiente. La UVL de origen de los animales deberá haber recibido la información y procedido a suspender la calificación T3 en el rebaño de origen en un plazo máximo de 7 días laborables (MAPA, 2022).

En el caso de que haya animales que, no habiendo resultado positivos a las pruebas realizadas para el diagnóstico de la tuberculosis bovina, pertenezcan a un establecimiento o a un grupo de animales en los que deba realizarse un seguimiento epidemiológico, o sean “reses de seguimiento”, deberá adjuntarse al documento de traslado un documento anexo en el que se especifique la necesidad de la toma de muestras y su posterior envío al laboratorio (MAPA, 2022).

Los Servicios de Sanidad Animal comunicarán a los Servicios competentes de Salud Pública en su ámbito territorial los casos de tuberculosis en el ganado cuyo origen pueda estar en personas que trabajan en contacto con el ganado. De igual forma, los Servicios competentes en Salud Pública comunicarán a los Servicios de Sanidad Animal de su ámbito territorial los casos de

tuberculosis en personas relacionadas con el cuidado de animales de la especie bovina en establecimientos contemplados en este Programa Nacional (MAPA, 2022).

9. MOVIMIENTO DE ANIMALES

Los movimientos de animales se realizan bajo control veterinario, tal como se establece en el Real Decreto 2611/96 y sus posteriores modificaciones. Para el traslado de los animales es necesaria la Guía de Origen y Sanidad Pecuaria, Certificado Sanitario de Origen, y el Documento de Identificación individual Bovino (DIB). Los movimientos de los animales entre los distintos establecimientos se controlan a través del REMO (Registro de Movimientos de las especies de interés ganadero), el cual forma parte del Sistema Integral de Trazabilidad Animal (SITRAN).

Antes de realizar los movimientos de los animales es obligatoria la realización de pruebas diagnósticas: se realizarán chequeos previos o posteriores en los movimientos de animales mayores de 6 semanas, a excepción de los siguientes casos:

- Cualquier movimiento con origen en una provincia libre de infección por MTBC.
- En movimientos con destino a establecimientos de cebo calificados si el establecimiento de origen y los animales a transportar se han chequeado en los 6 meses anteriores, o en los 12 meses anteriores (la provincia de procedencia es de prevalencia $< 0,2\%$ los últimos 4 años).
- En movimientos en los que no hay cambio de titularidad (salvo exposiciones, certámenes ganaderos no permanentes o pastos de aprovechamiento en común) cuando el establecimiento de origen sea T3H y o bien se haya chequeado en los 6 meses anteriores, o bien la comarca o UVL de origen tenga una prevalencia inferior al 1%.
- Dentro de CCAA de prevalencia inferior al 1%. Estas excepciones no serán aplicables si la provincia de destino está declarada como libre de infección por MTBC y la de origen no.
- Dentro de CCAA de prevalencia inferior al 1%, en movimientos internos desde establecimientos T3H que decida la autoridad competente (incluidos exposiciones, certámenes ganaderos no permanentes o pastos de aprovechamiento en los que solo concurren animales de esa única comunidad autónoma), siempre que estos establecimientos y animales que se mueven se hayan chequeado en los 12 meses anteriores.

No podrá ser objeto del movimiento ningún animal que no tenga resultados negativos a la PPD (Derivado Proteico Purificado) bovina en la última prueba que se haya realizado sobre dicho animal. Se puede autorizar excepcionalmente el movimiento de terneros positivos desde establecimientos positivos o con calificación suspendida a cebaderos autorizados T1 y otros cebaderos, siguiendo siempre el "Protocolo para la autorización de movimientos de terneros desde establecimientos positivos a cebaderos autorizados por la autoridad competente 2022" disponible en la web del MAPA (MAPA,2022).

Las pruebas de movimiento se realizan dentro de los 30 días anteriores al movimiento, pero por causa justificada dicha validez podrá ampliarse hasta un máximo de 45 días, al igual que en el caso de que deban realizar un nuevo cambio de establecimiento. Siempre debe haber la presencia de un veterinario en calidad de perito nombrado por el comprador o por servicios veterinarios oficiales de destino. Previo acuerdo con las autoridades competentes de origen y destino de los animales, el chequeo podrá realizarse con posterioridad al movimiento de los animales, siempre y cuando se aisle a los animales hasta obtener un resultado negativo a la prueba. Las pruebas podrán realizarse dentro del plazo de 45 días (MAPA, 2022).

Por último, se realizarán pruebas posteriores al movimiento (dentro de los 90 días siguientes a la entrada de los animales), de tipo aleatorio y en función del riesgo. Por comunidad autónoma serán controlados, todos aquellos movimientos que la autoridad competente considere adecuados en función de su situación sanitaria y al menos un 10% de movimientos de animales con destino a un establecimiento de reproducción o producción (no cebaderos) cuyo origen sean preferentemente CCAA de prevalencia superior a 1% (MAPA, 2022).

10. PRUEBAS DIAGNÓSTICAS

Las pruebas diagnósticas están recogidas en el Real Decreto 2611/1996 y en el Reglamento (UE) 2020/689, y son realizadas por los laboratorios autorizados aprobados por el Laboratorio Nacional de Referencia (LNR). Las pruebas de diagnóstico oficial son la intradermotuberculinización simple (IDTBS), intradermotuberculinización comparada (IDTBC) y la prueba del interferón gamma (γ -IFN). Como pruebas auxiliares, para la investigación de casos sospechosos, se clasificará un animal como caso confirmado cuando haya sido identificado mediante histopatología, inmuno-histoquímica, PCR directa, y aislamiento.

En rebaños no libres de infección y en zonas de alta prevalencia se utiliza la IDTBS como prueba de cribado oficial. No obstante, en situaciones de rebaños T3 con animales positivos o dudosos en IDTBS, se utilizará la IDTBC. El uso del γ -IFN EURLAB como alternativa a la IDTB será decidido siempre por la autoridad competente.

El asesoramiento técnico y científico del PNETB es realizado por el LNR, el cual se encuentra en Santa Fe (Granada), en colaboración con el Laboratorio de Referencia Europeo (EURLAB) de Tuberculosis Bovina ubicado en el Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET) de la Universidad Complutense de Madrid (MAPA,2019). El Centro VISAVET-EURLAB se complementará con el LNR y se le remitirán desde los laboratorios de las distintas Comunidades Autónomas muestras para el cultivo, aislamiento y caracterización molecular del MTBC. Asimismo, los laboratorios de las Comunidades Autónomas que tengan previsto realizar

caracterización molecular adecuarán sus procedimientos con dicho centro, y remitirán la información necesaria para continuar con la elaboración de la Base de Datos Nacional de Espoligotipos, que sirve de soporte a los estudios epizootiológicos (MAPA, 2022).

11. ACTUACIONES EN CASO DE REBAÑOS POSITIVOS

La tuberculosis bovina es una enfermedad de declaración obligatoria en España, y esta se debe declarar oficialmente conforme a lo dispuesto en la Ley 8/2003 de Sanidad Animal y en el Real Decreto 526/2014, en el que se establece la lista de las enfermedades de los animales de declaración obligatoria y da la normativa para su comunicación. A nivel nacional, las medidas adoptadas frente a casos positivos están descritas en el Real Decreto 2611/1996 y en Reglamento (UE) 2020/689.

Si se confirma un caso, la autoridad competente:

- a) Retirá al establecimiento infectado el estatus de libre de enfermedad.
- b) Realizará una encuesta epidemiológica siguiendo el “Manual para la realización de encuestas epidemiológicas reducidas 2020”.
- c) Llevará a cabo una investigación en animales silvestres de poblaciones animales adicionales cuando la encuesta epidemiológica revele vínculos epidemiológicos entre animales en cautividad y silvestres.
- d) Informará sobre la situación lo antes posible a los operadores y a las autoridades pertinentes de los Estados miembros afectados y de terceros países.
- e) Prohibición de salida de animales de la población animal diana de los establecimientos infectados, a menos que se haya autorizado su sacrificio inmediato en un matadero designado.
- f) Si se considera necesario para evitar la propagación de la enfermedad, se aislarán los casos sospechosos y confirmados, y se limitarán los desplazamientos e introducción de animales de la población animal diana dentro del establecimiento en cuestión.
- g) Realizará pruebas diagnósticas a aquellos animales para completar las encuestas epidemiológicas, a los establecimientos contiguos al considerado infectado y a los epidemiológicamente relacionados.
- h) Ordenará que todos los animales de los establecimientos infectados reconocidos como casos confirmados y, si es necesario, como casos sospechosos se sacrifiquen en el plazo máximo de quince días tras de la notificación oficial.
- i) Podrá considerar un pasto como contaminado y prohibir su uso hasta que la persistencia del agente patógeno se considere insignificante.

12. SACRIFICIO DE ANIMALES POSITIVOS

Como se ha mencionado anteriormente, se procederá al sacrificio de los animales positivos, bajo control oficial, en un máximo de quince días después de la notificación oficial al propietario o al poseedor de los resultados de las pruebas, pudiendo haber alguna excepción en situaciones muy concretas. Después del sacrificio se procederá a indemnizar al ganadero de acuerdo con los baremos oficialmente establecidos (MAPA, 2022).

El sacrificio será realizado en un matadero autorizado (al que el animal llega con su documentación obligatoria: CONDUCE y Certificado Sanitario de Origen) de la Comunidad Autónoma en la que radica el establecimiento de los animales positivos. El sacrificio de los reaccionantes positivos podrá realizarse también en el propio establecimiento o en lugares expresamente autorizados. Después del sacrificio, se deberá proceder al traslado de los restos a centros de eliminación y transformación de animales muertos y subproductos de origen animal (MAPA, 2022).

Finalizado el sacrificio de los animales positivos, se procederá a la limpieza y desinfección de los establecimientos y utensilios, y se procederá a la gestión del estiércol de acuerdo con el "Protocolo de Gestión de estiércol en explotaciones positivas a tuberculosis y brucelosis". La reposición de animales en establecimientos positivos sólo podrá realizarse después de que los bovinos de más de seis semanas que queden en el establecimiento hayan presentado un resultado favorable en, al menos un examen de investigación de tuberculosis (MAPA, 2022).

13. VACIADO SANITARIO

Es obligatorio el sacrificio de los animales positivos y de los considerados como tales por la autoridad competente. Pero en función de la prevalencia de la comunidad autónoma u otras razones de índole sanitaria se podrá o deberá ampliar el sacrificio mediante la realización del vaciado sanitario del establecimiento. Los vacíos sanitarios se establecen en aras del interés general, evitando la persistencia de la infección y el riesgo de contagio a rebaños sanos, valorando especialmente las zonas en la que hay casos repetidos de establecimientos positivos.

En cualquier comarca veterinaria de prevalencia 0, cuando aparezca un rebaño o una unidad epidemiológica considerada infectada, se realizarán siempre vacíos sanitarios, excepto situaciones justificadas, como por ejemplo la protección de recursos genéticos (MAPA, 2022).

14. VIGILANCIA DE LA FAUNA SILVESTRE

La actuación del PNETB se complementa con un programa de vigilancia y control sobre fauna silvestre a través del Plan de Actuación sobre Tuberculosis en Especies Silvestres (PATUBES), publicado en 2017. El PATUBES comprende propuestas de medidas concretas a aplicar en

función de la clasificación de las distintas regiones de acuerdo con su situación epidemiológica de riesgo (retirada de subproductos de la caza, limitación de densidades por distintos métodos, asesoramiento en materia de bioseguridad en establecimientos ganaderos, formación, etc). La normativa centra su aplicación en la gestión de los subproductos no destinados a consumo humano en actividades cinegéticas y en actuaciones sanitarias sobre especies cinegéticas que actúan como reservorio del MTBC (MAPA, 2022; MAPAMA, 2017a).

EVOLUCIÓN DEL PLAN NACIONAL DE ERRADICACION DE LA TUBERCULOSIS BOVINA Y SITUACION ACTUAL EN ESPAÑA

En España las primeras actuaciones de lucha contra la tuberculosis bovina se inician a principios de la década de 1950, con base legal en la Ley de Epizootias de 1952 y su Reglamento de 1955. No obstante, no es hasta 1965 cuando (mediante la Orden de 24 de mayo) se establece un Plan Nacional de Lucha contra la tuberculosis y brucelosis bovina, centrado sobre todo en los principales núcleos de vacuno lechero del norte y centro de España, haciendo hincapié en los chequeos diagnósticos con fines estadísticos, indicando una incidencia aproximada en animales del 20%. Posteriormente, el Ministerio de Agricultura promulgó, en 1978, la Orden de 25 de noviembre, en la que se fijaban las normas básicas para las Campañas de Saneamiento Ganadero (CSG) en el territorio nacional (Balseiro et al., 2020).

Tras la entrada de España en la Comunidad Económica Europea (CEE), en 1987 nuestro país presenta un Programa de Erradicación Acelerada, siguiendo las Directivas 77/391/CEE y 78/52/CEE y la Decisión 87/58/CEE. Desde entonces, los Programas nacionales de erradicación de la TB han sufrido diversas modificaciones y cambios de orientación, con el fin de adaptarse a las transformaciones acontecidas en el manejo de los animales y en la estructura de las explotaciones, a los flujos comerciales y al mayor conocimiento científico de la enfermedad (diagnóstico, epidemiología, patogenia, inmunología, etc.).

En febrero de 1990, se alcanza un acuerdo entre el Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación (MAPA) y las CCAA para elaborar un Programa Acelerado de Erradicación de cara al Mercado Único de 1993. En este último, se establece la identificación individual de los animales objeto de CSG mediante un crotal metálico, el sacrificio de los reaccionantes positivos en mataderos autorizados y el traslado de estos mediante un documento especial o "CONDUCE". A partir de enero de 1991 se autoriza el transporte de los animales de aptitud láctea que concurren a ferias y mercados, si previamente habían sido sometidos a CSG con resultados negativos y, a partir de enero de 1992, el de animales de aptitud cárnica. En estos

años iniciales de la década de 1990 se continúa actuando preferentemente sobre el bovino de leche, pero se incrementa considerablemente el censo del de carne (Balseiro et al., 2020).

En 1993 entra en vigor el Mercado Único, y toda la normativa comunitaria relacionada supuso un impulso para la ejecución del Programa Nacional. Se consiguió actuar sobre un 90% del censo, chequeándose en torno a 3,5 millones de animales. Por tanto, podemos considerar ese año como punto de partida de la implementación del Programa Nacional de forma homogénea en toda España (Balseiro et al., 2020).

El punto de inflexión en los Programas Nacionales de Erradicación de la Tuberculosis Bovina tuvo lugar en los años 2006-2010, en los que se produce un cambio cualitativo en el planteamiento de los objetivos, de forma que se sentaron las bases para garantizar actuaciones continuadas en el tiempo con una perspectiva plurianual, establecido en 5 años. En dichos programas se establecieron tres grupos de actuación según la prevalencia de la enfermedad: CCAA con una prevalencia de rebaño cero, de baja prevalencia, o de alta prevalencia, mientras que hasta entonces el enfoque estaba diferenciado por la aptitud productiva (MAPA, 2008).

Uno de los principales objetivos a mejorar de estos programas fue aumentar la sensibilidad del diagnóstico, tanto a nivel de rebaño como individual. El aumento en la frecuencia de las pruebas anuales, la realización de pruebas previas a los movimientos de animales, la inclusión de protocolos normalizados de trabajo para la realización de las pruebas diagnósticas, la intensificación de las inspecciones sin previo aviso sobre los equipos de campo, la aplicación de criterios severos en la interpretación de la IDTBS o el incremento paulatino de las pruebas complementarias de γ -IFN en rebaños positivos confirmados, representaron las medidas principales para incrementar la sensibilidad. La gestión de posibles reservorios silvestres o la integración del sistema de vigilancia en mataderos fueron también otras medidas adicionales introducidas en estos programas (Balseiro et al., 2020).

En el año 2010 se celebraron en Santander las Jornadas de Debate para la Erradicación de la Tuberculosis Bovina, de las cuales surgieron las ideas maestras que inspiraron los PNETBs posteriores a 2012 (MARM, 2012). En estas Jornadas se señalaron cuestiones fundamentales como la necesidad de formación y validación de los profesionales implicados en la realización de las pruebas de campo, la especialización de los profesionales encargados de llevar a cabo las encuestas epidemiológicas, la utilidad de ampliar el uso de la prueba del γ -IFN como prueba complementaria, la importancia de incorporar en el Programa de forma efectiva el componente de vigilancia en matadero, la importancia de contar con la colaboración del sector para que perciba el problema como propio, y la búsqueda de medidas y herramientas administrativas que

permitan asegurar la viabilidad económica de las explotaciones. También se llegó a la conclusión de que los reservorios domésticos y silvestres constituyen un factor clave fuera del radio de acción de las CSG, y requieren un abordaje común por parte de ganaderos, cazadores, veterinarios y administraciones públicas de Sanidad Animal y Medio Ambiente. Especial importancia adquiere la minimización del acceso de los jabalíes a los residuos de caza, limitando la alimentación suplementaria y la sobreabundancia de estos animales y desarrollando un programa nacional de vigilancia en fauna silvestre.

En 2012 se constituye un grupo específico de trabajo formado por expertos del Ministerio, CCAA y LNR para incorporar todas estas cuestiones en la elaboración de los programas de erradicación anuales. Su principal objetivo fue el de planificar la siguiente campaña en función de la evolución epidemiológica existente en años anteriores, la información científica más actualizada disponible y las recomendaciones de la misiones de la Oficina Alimentaria y Veterinaria (FVO) y del Subgrupo de la Tuberculosis Bovina de la Task Force, así como el documento de trabajo “Erradicación de la tuberculosis bovina en la Unión Europea (UE)” (SANCO/10067/2013) elaborado por dicho Subgrupo (Balseiro et al., 2020). El PNETB se centra, desde entonces, en ir incorporando las distintas medidas, entre las que se citan las siguientes:

- Combatir las principales causas más probables de infección, identificadas en el estudio de investigación epidemiológica de focos de TB en España (Guta et al., 2014).
- Incrementar la sensibilidad diagnóstica en el diagnóstico de campo y laboratorial.
- Formar a los equipos de saneamiento para combatir la infección residual.
- Fomentar la colaboración con los Servicios Veterinarios de Salud Pública en la vigilancia en mataderos.
- Establecer las medidas de control sobre los reservorios silvestres como líneas maestras.

Estas medidas fueron algunos los pilares fundamentales del Programa para los años 2012-2015, haciendo hincapié en los cursos de formación y de validación de la prueba de la tuberculina para los veterinarios de campo que intervienen en el programa (MAPAMA, 2016). En relación con la fauna silvestre, como ya se ha mencionado anteriormente, en 2017 se publicó el PATUBES, plan pionero a nivel de la UE, que fue elaborado por expertos en TB y fauna silvestre tanto de las administraciones públicas como de los principales centros de investigación (MAPAMA, 2017a).

En paralelo con la inclusión de todas estas medidas de refuerzo, y allí donde ha sido posible, se han ido implementando igualmente ciertas medidas de flexibilización permitidas por la normativa o por los documentos de trabajo de la Comisión Europea allí, como el proyecto piloto para la autorización de movimientos de terneros desde explotaciones positivas a cebaderos, el

protocolo de flexibilización para zonas de baja prevalencia y otras medidas más técnicas, como excepciones a las pruebas pre-movimiento, la posibilidad de usar la prueba de diagnóstico IDTB comparada o la posibilidad de ampliar a 2 años el intervalo entre las pruebas rutinarias, en función de la prevalencia (Balseiro et al., 2020).

Para el análisis de la evolución de la lucha contra la enfermedad, se presenta a continuación un estudio epidemiológico descriptivo basado en la evaluación de los indicadores disponibles históricamente (Ilustraciones 2,3,4,5,6 y 7), y que están basados en la normativa comunitaria de elaboración y presentación de informes sobre los Programas Nacionales de Erradicación de Enfermedades.

PREVALENCIA DE REBAÑO

La aplicación de los planes nacionales a partir de la entrada de España en la CEE en 1987, en la que la prevalencia de rebaño se situaba en el 11,77%, ha supuesto un avance discontinuo hacia la erradicación de la enfermedad en el ganado bovino, con rebrotes ocasionales aproximadamente cada 5 años (1990, 1996, 2001, 2006, 2009, 2013, 2014, 2015 y 2016). Desde el PNE de 2001 la tendencia anual de este indicador epidemiológico mantuvo un descenso sostenido, hasta el año 2013, tras el cual dicho indicador sufrió un repunte, sobre todo en 2015 y en 2016, alcanzando niveles incluso superiores a los de 2001, y observándose desde entonces una tendencia de nuevo descendente (MAPA, 2021a). (Véase Ilustraciones 2 y 3).

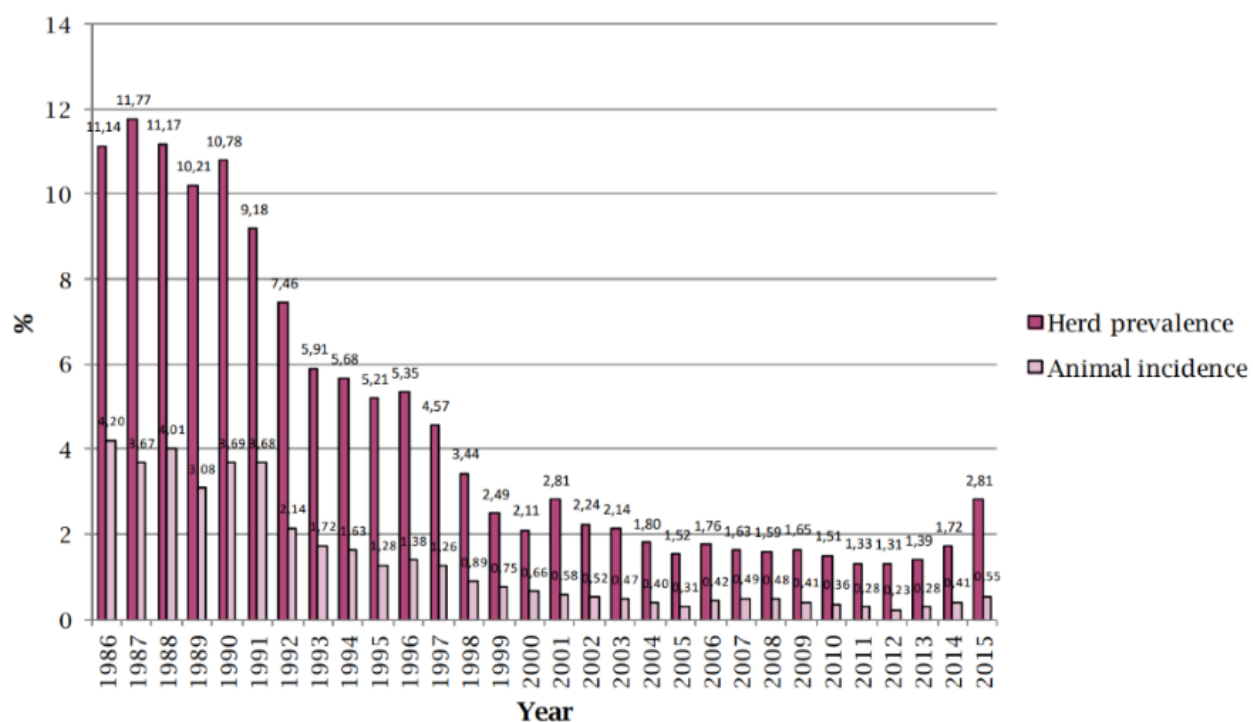


Ilustración 2 Prevalencia de rebaño e incidencia en los animales en el periodo 1986-2015 de la tuberculosis bovina en España (MAPA, 2015)

El análisis de tendencia para la serie temporal 2002-2010 muestra que los descensos son significativos para toda la serie, y si se compara cada año con el anterior, excepto entre 2002 y 2003 y entre 2007 y 2008; en 2006 se produce un ascenso también significativo con respecto al año anterior, posiblemente motivado porque ese año se inició el aumento de sensibilidad del Programa; y en 2008 la tendencia de descenso es significativa con respecto a todos los años anteriores, excepto para los años 2005 y 2007, donde el descenso no es significativo (MAPA, 2008,2010).

La tendencia en los años 2010 y 2012 es de un descenso sostenido, situándolo en el nivel más bajo hasta la fecha. En 2011 la prevalencia descendió un 12% (1,33%), y en 2012 un 3% (1,31%) respecto al año anterior (MAPA,2011). Esa misma tendencia de descenso de este indicador se ha manifestado en el año 2013, con un leve repunte tras varios años de descenso (1,39%). Como en repuntes anteriores, se asocia principalmente con periodos intensos de sequía en ciertas zonas. Este pequeño repunte en el año 2013 se confirma como rebrote en los años 2014 y, sobre todo, en 2015 y 2016 (Ilustración 3). El análisis de tendencia para la serie temporal 2013-2016 muestra una tendencia de ascenso que es significativa para toda la serie (MAPA,2015; MAPA 2021a).

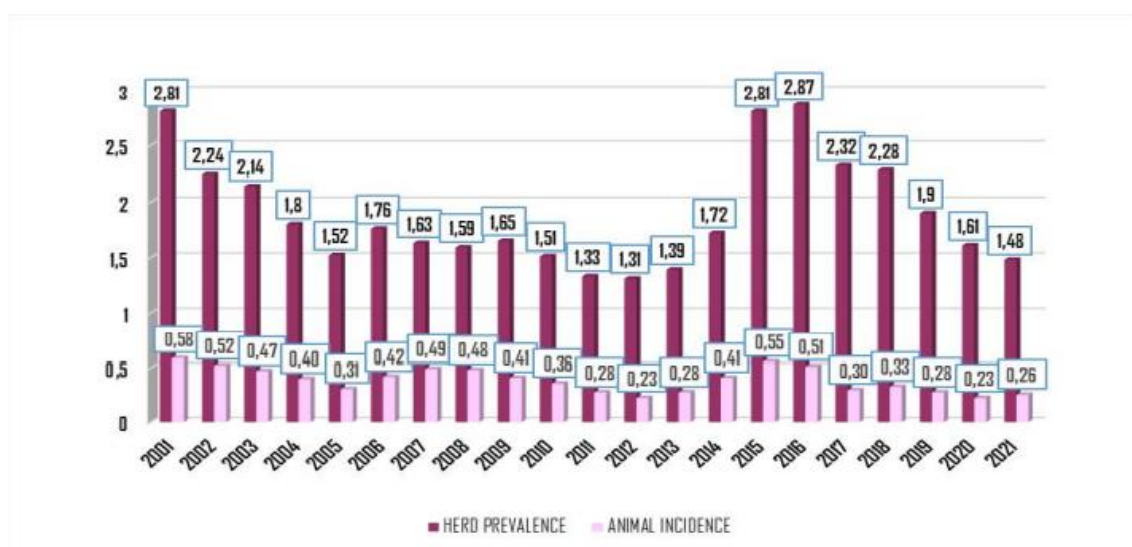


Ilustración 3 Prevalencia de rebaño e incidencia en los animales en el periodo 2001-2021 de la tuberculosis bovina en España (MAPA,2021a)

El ascenso de 2016 respecto a 2015 no fue significativo. En 2017 se produjo en dicho indicador un descenso significativo del 19% respecto a 2016, y del 1,7% (no significativo) en 2018 respecto a 2017. Si bien este último descenso no fue significativo, debido al incremento experimentado por una comunidad autónoma (brote de Castilla-La Mancha, de un 20,67%, como se puede observar en la Ilustración 4), sí es significativo para el resto de España. En 2019 y 2020 se

producen descensos adicionales significativos del 17% y del 16%, respectivamente. Por último, en 2021 se produce un descenso significativo del 8% con respecto al 2020, quedando la prevalencia de rebaño en un 1,48%. En resumen, el análisis de tendencias para la serie temporal 2016-2021 muestra una tendencia de descenso que es significativa (MAPA, 2018, 2021a).

La evolución de la prevalencia de la enfermedad en ganado bovino en las distintas CCAA se refleja en la siguiente tabla (Ilustración 4). En el último Informe Final Técnico-Financiero de Tuberculosis Bovina del 2021 observamos cómo las CCAA con mayor prevalencia son las ubicadas geográficamente al sur de la península, siendo las más destacadas, Andalucía (6,57%), Castilla la Mancha (8,96%) y Extremadura (4,33%). Pero, aun así, la valoración global del periodo 2002-2021 es muy positiva, disminuyendo la prevalencia de rebaño del 2,24% en 2002 al 1,48% en 2021 (MAPA, 2021a).

CCAA	PREVALENCIA REBAÑO																			
	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021
ANDALUCÍA	9,65	8,47	6,73	5,32	5,76	4,15	5,80	8,94	8,54	6,16	5,69	5,94	11,51	17,24	17,10	12,34	9,83	7,58	6,43	6,57
ARAGÓN	3,14	2,75	2,03	1,56	1,96	3,65	0,75	0,70	1,22	1,62	1,38	0,71	0,58	0,81	0,60	0,49	0,28	0,28	0,43	0,12
ASTURIAS	0,32	0,22	0,24	0,18	0,17	0,24	0,22	0,21	0,18	0,14	0,19	0,20	0,21	0,28	0,17	0,08	0,05	0,09	0,09	0,12
BALEARES	0,92	1,02	0,65	0,65	0,22	0,21	0,00	0,00	0,17	0,00	0,40	0,60	0,41	0,60	0,00	0,00	0,31	0,00	0,00	0,00
CANARIAS	0,34	1,05	2,40	1,00	0,36	0,37	0,24	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
CANTABRIA	1,00	1,34	1,41	1,16	1,05	2,25	1,57	0,91	0,78	0,74	0,89	0,88	0,70	1,38	0,83	0,50	0,54	0,49	0,47	0,69
CASTILLA LA MANCHA	7,69	3,36	7,19	7,02	7,71	9,51	11,62	10,27	7,11	5,35	3,54	3,33	7,21	7,63	7,84	10,35	20,67	14,94	10,97	8,96
CASTILLA Y LEÓN	5,10	5,66	3,78	3,37	5,11	4,16	3,71	2,75	2,62	2,57	2,66	2,88	2,22	1,93	1,87	1,63	1,43	1,41	1,41	1,34
CATALUÑA	1,93	1,74	1,78	1,70	1,65	1,08	0,85	0,83	0,59	0,81	0,25	0,04	0,16	0,32	0,30	0,18	0,16	0,04	0,04	0,06
EXTREMADURA	7,45	5,95	5,57	4,05	4,84	3,74	3,37	3,78	3,04	3,11	3,29	4,53	4,62	12,23	12,96	9,75	8,45	6,65	5,32	4,33
GALICIA	0,52	0,43	0,46	0,31	0,20	0,19	0,11	0,22	0,28	0,19	0,21	0,12	0,11	0,08	0,05	0,02	0,05	0,03	0,03	0,02
LA RIOJA	2,05	2,70	2,76	1,31	0,72	0,70	1,45	0,75	1,14	0,38	0,36	0,37	0,72	2,81	3,86	2,11	1,79	6,55	5,84	4,00
MADRID	3,69	3,92	1,99	2,58	2,59	3,41	5,72	5,54	5,45	7,22	6,13	4,51	3,55	3,86	3,04	2,69	2,92	2,44	2,32	2,76
MURCIA	5,79	1,48	7,59	4,46	4,96	8,05	3,29	3,51	1,59	0,33	1,40	1,84	0,94	1,66	2,90	1,23	0,30	0,00	0,00	0,00
NAVARRA	0,52	0,82	0,36	0,38	0,27	0,33	0,40	0,30	0,67	0,65	0,30	0,66	0,67	0,50	0,64	0,69	0,39	0,32	0,38	0,19
PAÍS VASCO	0,06	10,17	0,22	0,64	0,19	0,14	0,20	0,57	0,37	0,33	0,25	0,17	0,25	0,16	0,17	0,09	0,00	0,00	0,05	0,00
VALENCIA	12,47	5,56	2,63	2,16	1,61	0,14	1,41	1,38	3,84	1,94	1,55	2,88	3,06	2,73	1,99	4,00	4,12	2,79	2,06	1,18
TOTAL	2,24	2,14	1,80	1,52	1,76	1,63	1,59	1,65	1,51	1,33	1,31	1,39	1,72	2,81	2,87	2,32	2,28	1,90	1,61	1,48

Ilustración 4 Evolución de la prevalencia de la enfermedad en las diferentes CCAA en el periodo 2002-2021 (MAPA, 2021a)

INCIDENCIA EN REBAÑOS Y ANIMALES

La evolución de estos dos indicadores epidemiológicos (Ilustración 5) muestra series bimodales de ascenso y descenso en el caso de los nuevos rebaños positivos, con un ascenso significativo

en el año 2007, reflejo de un aumento en la sensibilidad del diagnóstico a nivel de rebaños, ya que en ese año se inició la realización de 2 pruebas anuales a los rebaños T3 situados en zonas de alta prevalencia y se continuó con la interpretación severa de la IDTBS. Esta tendencia al aumento ha sido controlada en 2008 y 2010, con un descenso también significativo respecto a 2007. En cuanto a la incidencia en animales, el descenso significativo continuó hasta el año 2005, pero cambió en los años 2006 y 2007, debido al elevado número de pruebas complementarias de gamma-interferón realizadas en paralelo con la interpretación severa de la IDTB. Desde el año 2008 varía esa nueva tendencia de descenso, continuando en 2009, 2010, 2011 y 2012 la nueva tendencia de descenso. En 2013-2015 se produce un nuevo ascenso, motivado por el notable aumento en el número de pruebas de gamma-interferón efectuadas, por la realización de cursos de validación de la prueba de IDTB para todos los veterinarios que participan en el control del programa, y por la mayor presión de control oficial sobre sus actuaciones, con el consiguiente aumento en la sensibilidad individual y de rebaño, que conlleva una mayor detección de la infección residual (MAPA, 2008, 2015). En el año 2016 cambia de nuevo la tendencia, con un descenso muy significativo en 2017, 2019 y 2020. Cabe destacar que en el año 2020 se alcanza la menor incidencia de animales positivos desde el inicio del Programa Nacional en el año 1987. En términos absolutos, es el segundo año de toda la serie histórica con menor número de animales positivos, después del año 2012 (MAPA,2020). Por el contrario, en 2021 se detecta un nuevo aumento significativo (MAPA, 2021a).

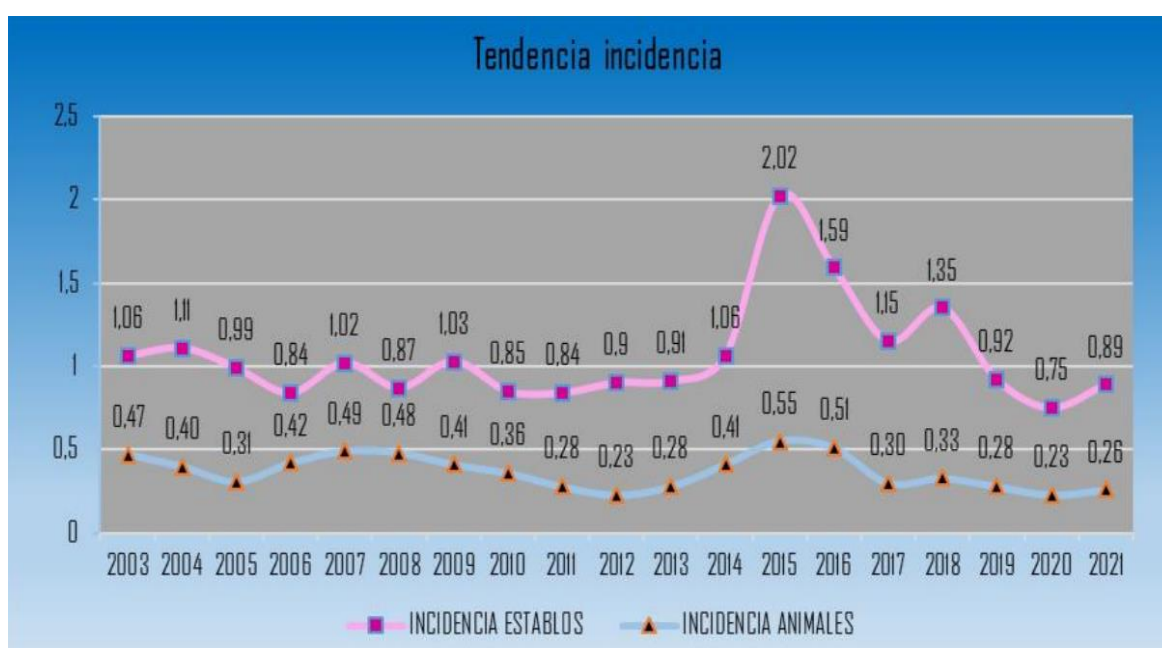


Ilustración 5 Incidencia en los establos y animales en el periodo de 2003-2021 (MAPA,2021a)

ANÁLISIS DE LOS INDICADORES EPIDEMIOLÓGICOS POR APTITUD PRODUCTIVA

Si consideramos los indicadores por aptitud productiva, el bovino de lidia es el rebaño con mayor prevalencia (4,81%) e incidencia (2,74%). A continuación, se encuentra el rebaño de bovino de carne, con prevalencia e incidencia 1,57% y 0,96% respectivamente. Por último, el rebaño de aptitud lechera es el de menor prevalencia (0,55%) e incidencia (0,31%). (Ilustración 6) (MAPA, 2021a).

Esto es debido a que el bovino de carne y el bovino de lidia se explotan en su mayoría en regiones en general caracterizadas por una orografía desfavorable, que condiciona el sistema de explotación y de manejo de los animales, con explotaciones de ganado bovino en régimen extensivo constituido principalmente por razas autóctonas (incluida la lidia) sometidas a un régimen de pastoreo en común en zonas de difícil acceso y en determinadas zonas compartiendo explotación con otras especies, sobre todo ganado caprino. La convivencia con la fauna silvestre, reservorio de la enfermedad, es otro factor condicionante que afecta negativamente la óptima evolución del PNETB, habiéndose aislado *M. bovis* en jabalí, ciervo o corzo (MARM, 2011; MAPA, 2021a).

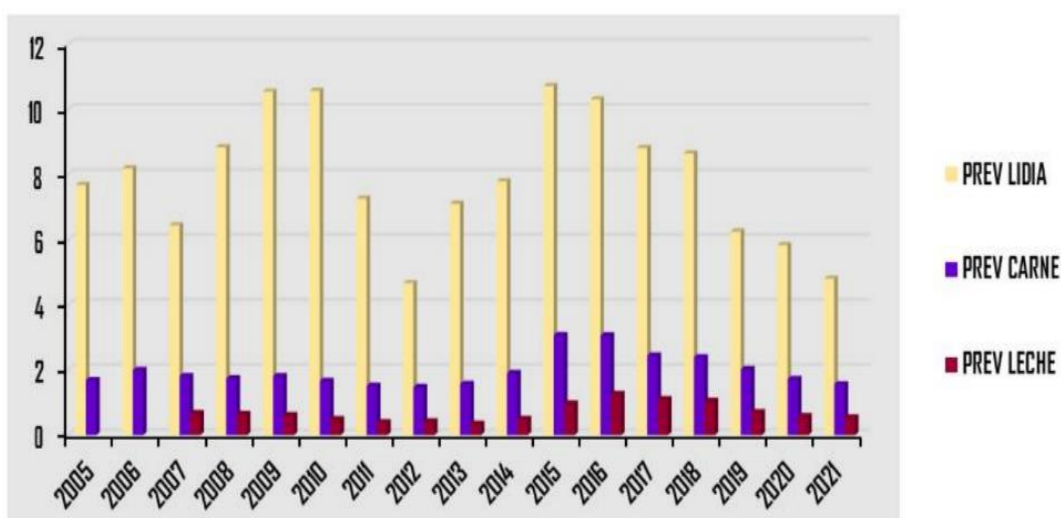


Ilustración 6 Histórico de prevalencias en el ganado de lidia, carne y leche en el periodo 2005-2021 (MAPA, 2021).

CALIFICACION DE REBAÑOS

En 2021 el porcentaje de rebaños T3 (96,97%) creció ligeramente. El 96,97% de los rebaños incluidos en el PNETB fueron negativos en la última prueba de diagnóstico realizada sobre ellos. En general, el porcentaje de rebaños T3 ha ido creciendo desde 2002, excepto en los años 2006, 2009, 2010, 2011, 2015 y 2018 (Ilustración 7).

Siendo el aumento de rebaños libres de enfermedad uno de los principales objetivos del PNETB, la evolución de las calificaciones de los rebaños indica un continuado avance hacia la

erradicación de la tuberculosis bovina. En el Informe Final Técnico Financiero de la Tuberculosis Bovina de 2021, los rebaños T1 obtuvieron un valor de 0,05%, T2+ el 1,27%, T2- el 0,98%, TS un 0,73% y el rebaño T3 un 96,97%, situando la tuberculosis bovina en el correcto camino hacia la erradicación (MAPA, 2021a).

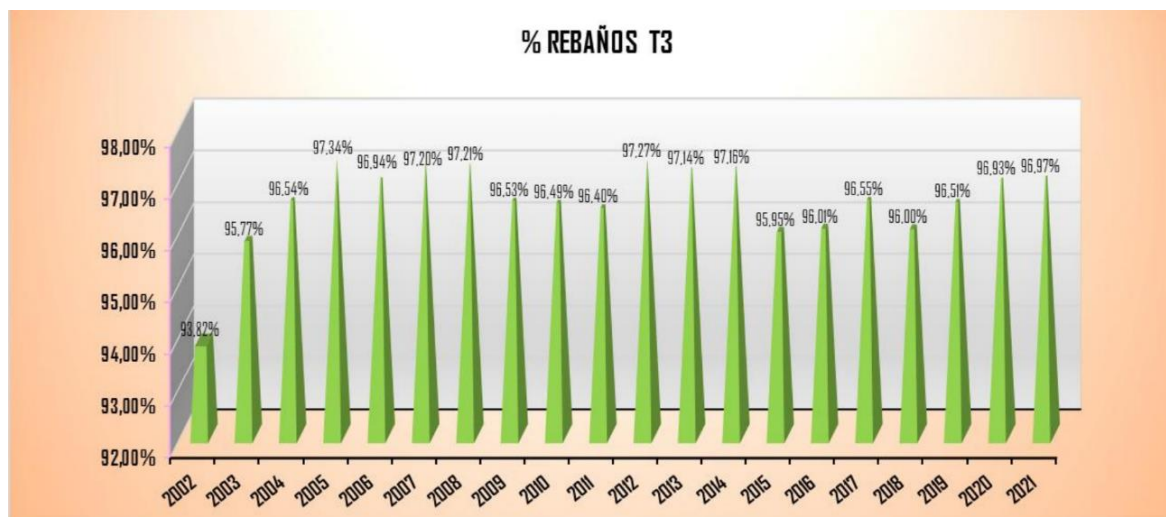


Ilustración 7 Histórico de rebaños con calificación T3 en el periodo 2002-2021 (MAPA, 2021a)

MEJORAS DE CARA AL FUTURO

A nivel nacional pueden considerarse cumplidos los objetivos marcados por la Comisión Europea para España para el año 2021 referidos a la prevalencia de rebaño, ya que el objetivo para 2021 era del 1,52% y se ha reducido hasta el 1,48%. No así la incidencia de rebaño: el objetivo era del 0,74% y se ha situado en el 0,89% (Ilustración 5). Esto demuestra que, aunque España se encuentre en el camino correcto hacia la erradicación, de cara al futuro hay puntos en lo que mejorar, como son el flujo de la información de cara al ganadero y la sociedad, y la mejora en el diagnóstico (MAPA, 2021a).

La campaña de erradicación comenzó hace ya muchos años, en 1987, y el cansancio de los ganaderos y veterinarios es un riesgo evidente que puede comprometer la erradicación de la enfermedad. Tras años de campaña se ponen en duda los resultados de las pruebas de diagnóstico, la eficacia del Programa, los beneficios de estar libres de la enfermedad, y esto genera un clima de desconfianza. En este caso será importante de cara al futuro invertir en campañas de comunicación y mejorar el flujo de información entre las diferentes partes afectadas por las medidas de control (Pérez de Val y Allepuz, 2019).

En cuanto a la mejora en las pruebas diagnósticas, se debe investigar y mejorar en el diagnóstico *ante mortem*, tanto para la IDTB como la prueba γ -IFN, desarrollando y evaluando el uso de

nuevos reactivos, más específicos y al menos tan sensibles como las tuberculinas (Pérez de Val y Allepuz, 2019).

También se debe avanzar hacia la idea de que la TB es una enfermedad multihospedador, diseñando sistemas de control que vayan desde la mejora de la bioseguridad de los rebaños rumiantes domésticos hasta la mejora de la gestión de la fauna silvestre. Establecer un programa de erradicación exclusivo para el caprino o mejorar la implantación de los planes de vigilancia de la fauna silvestre también son puntos a explorar. Por último, la vacunación de animales domésticos y silvestres es una herramienta que deberá ser utilizada en el futuro dentro del sistema integrado de medidas de control frente a la tuberculosis. A largo plazo la vacunación del ganado bovino también podría plantearse en el caso de que se demostrase que la nueva vacuna no interfiere en el diagnóstico y sea capaz de discriminar entre animales vacunados y no infectados (Pérez de Val y Allepuz, 2019; Balseiro et al, 2020).

CONCLUSIONES

Como consecuencia de la implantación del PNETB en España, la enfermedad ha experimentado un gran retroceso, situándola en el camino correcto hacia su erradicación. Pero aún queda mucho por recorrer y se requerirán nuevas inversiones y reforzar las existentes en investigación y desarrollo.

El sacrificio de los animales positivos, el vaciado sanitario, la restricción de movimiento de los rebaños, el control de la fauna silvestre a través del PATUBES, el adecuado diagnóstico y la implementación de medidas de bioseguridad han sido elementos clave para la actual situación favorable de la enfermedad. Continuando con las estrategias del PNETB en España, es probable que para el año 2030 se alcance el objetivo establecido de no más del 0,1% de rebaños infectados.

La evolución favorable de la situación de la TB traerá consigo muchos beneficios, así como el aumento de la rentade los ganaderos al liberarse de las restricciones al movimiento de animales impuestas en función de la calificación sanitaria. Esto ampliará el número de operadores comerciales con los que poder realizar transacciones y reforzar su postura negociadora, así como la valorización de sus productos. Por último, lo más importante: la erradicación de la enfermedad ofrece incuestionables beneficios a toda la sociedad en la lucha y eliminación de esta grave enfermedad animal y su riesgo como zoonosis.

CONCLUSIONS

As a result of the implementation of the National Program for the Eradication of Bovine Tuberculosis in Spain, this disease has been considerably reduced, putting it on the right track towards eradication. But there is still a long way ahead and new investments and reinforcement of existing investments in research and development will be required.

The culling of positive animals, stamping-out, restriction of herd movements, control of wildlife through PATUBES, appropriate diagnosis and implementation of biosecurity measures have been key elements for the current favorable situation of the disease. Continuing further with the strategies of the National Eradication Program in Spain, it is likely that by 2030 the established target of no more than 0.1% of infected herds might be reached.

The favorable evolution of the TB situation will entail great benefits, as well as increased income for cattle farmers by freeing the movement of animals imposed on the basis of health status. This will increase the number of commercial operators with whom cattle farmers can trade and reinforce their negotiating position as well as the value of their products. Finally, and most importantly, the eradication of the disease offers unquestionable benefits to society as a whole, through the control and elimination of this serious zoonosis.

VALORACIÓN PERSONAL

La elaboración de esta memoria ha representado una gran experiencia a nivel personal e intelectual, y me ha resultado de gran utilidad para conocer las bases de un programa nacional de erradicación y control de una enfermedad infecciosa zoonótica y de declaración obligatoria (como es el caso de la Tuberculosis bovina) y la repercusión de su implementación en la evolución de los indicadores epidemiológicos a lo largo del tiempo.

así mismo, ha sido muy útil en mi formación académica, ya que me ha permitido aprender a realizar una búsqueda sistemática y eficaz en bases de datos científicas y webs de instituciones oficiales, a redactar, documentar y citar de forma adecuada un trabajo académico, así como aprender a utilizar gestores bibliográficos, como Mendeley. También he aprendido a realizar una correcta búsqueda de legislación a nivel europeo y nacional, y su comprensión, lo cual me va a servir en un futuro próximo para la preparación de oposiciones de Salud Pública y Veterinaria.

BIBLIOGRAFÍA

Aranaz, A., Cousins, D., Mateos, A., y Domínguez, L. (2003). "Elevation of *Mycobacterium tuberculosis* subsp. *caprae* Aranaz et al. 1999 to species rank as *Mycobacterium caprae* comb. nov., sp. nov".

International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 53(6), pp. 1785–1789. DOI: 10.1099/ij.s.0.02532-0

- Arentz, M., y Hawn, T. R. (2007). “Tuberculosis Infection: Insight from Immunogenomics”. *Drug discovery today. Disease mechanism*, 4(4), pp. 231–236. DOI: 10.1016/j.ddmec.2007.11.003
- Balseiro Morales, A., y Gortázar Schmidt, C. (2015). *TUBERCULOSIS ANIMAL: investigación y control en España*. Villaviciosa:SERIDA.
- Balseiro Morales, A., Gortázar Schmidt, C., y Sáez, J. L. (2020). *Tuberculosis animal: una aproximación desde la perspectiva de la Ciencia y la Administración*. Madrid: Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.
- Beirne, C., Delahay, R., Hares, M., y Young, A. (2014). “Age-related declines and disease-associated variation in immune cell telomere length in a wild mammal”. *PLoS ONE*, 9(9). DOI: 10.1371/journal.pone.0108964
- Biet, F., Boschioli, M. L., Thorel, M. F., y Guilloteau, L. A. (2005). “Zoonotic aspects of Mycobacterium bovis and Mycobacterium avium-intracellulare complex (MAC)”. *Veterinary Research*, 36(3), pp. 411–436. DOI: 10.1051/vetres:2005001
- Brenner, D., Krieg, N., Staley, J., & Garrity, G. (2005). *Bergey’s Manual of Systematic Microbiology* (2^o ed.). Nueva York: Springer.
- Buddle, B. M., Parlane, N. A., Keen, D. L., Aldwell, F. E., Pollock, J. M., Lightbody, K., y Andersen, P. (1999). “Differentiation between Mycobacterium bovis BCG-Vaccinated and M. bovis-Infected Cattle by Using Recombinant Mycobacterial Antigens”. *Clinical and diagnostic laboratory immunology*, 6(1), pp. 1-5. DOI: doi.org/10.1128/CDLI.6.1.1-5.1999
- Buddle, B. M., Ryan, T. J., Pollock, J. M., Andersen, P., y de Lisle, G. W. (2001). “Use of ESAT-6 in the interferon- γ test for diagnosis of bovine tuberculosis following skin testing”. *Veterinary Microbiology*, 80(1), pp. 37–46. DOI: 10.1016/S0378-1135(00)00375-8
- Casal, C., Díez-Guerrier, A., Álvarez, J., Rodríguez-Campos, S., Mateos, A., Linscott, R., Martel, E., Lawrence, J. C., Whelan, C., Clarke, J., O’Brien, A., Domínguez, L., y Aranaz, A. (2014). “Strategic use of serology for the diagnosis of bovine tuberculosis after intradermal skin testing”. *Veterinary Microbiology*, 170(3–4), pp. 342–351. DOI: 10.1016/j.vetmic.2014.02.036
- Corner, L. A. L., Gormley, E., y Pfeiffer, D. U. (2012). “Primary isolation of Mycobacterium bovis from bovine tissues: Conditions for maximising the number of positive cultures”. *Veterinary Microbiology*, 156(1–2), pp. 162–171. DOI: 10.1016/j.vetmic.2011.10.016
- Costa, P., Amaro, A., Ferreira, A. S., Machado, D., Albuquerque, T., Couto, I., Botelho, A., Viveiros, M., y Inácio, J. (2014). “Rapid identification of veterinary-relevant Mycobacterium tuberculosis complex species using 16S rDNA, IS6110 and Regions of Difference-targeted dual-labelled hydrolysis probes”. *Journal of Microbiological Methods*, 107, pp. 13–22. DOI: 10.1016/j.mimet.2014.08.017
- Courcoul, A., Moyen, J. L., Brugère, L., Faye, S., Hénault, S., Gares, H., y Boschioli, M. L. (2014). “Estimation of sensitivity and specificity of bacteriology, histopathology and PCR for the

- confirmatory diagnosis of bovine tuberculosis using latent class analysis". *PloS one*, 9(3), pp.1-8. DOI: 10.1371/journal.pone.009033
- Courtenay, O., Reilly, L. A., Sweeney, F. P., Hibberd, V., Bryan, S., Ul-Hassan, A., Newman, C., Macdonald, D. W., Delahay, R. J., Wilson, G. J., y Wellington, E. M. H. (2006). "Is Mycobacterium bovis in the environment important for the persistence of bovine tuberculosis?". *Biology Letters*, 2(3), pp. 460–462. DOI:10.1098/rsbl.2006.0468
- de la Rua-Domenech, R., Goodchild, A. T., Vordermeier, H. M., Hewinson, R. G., Christiansen, K. H., y Clifton-Hadley, R. S. (2006). "Ante mortem diagnosis of tuberculosis in cattle: A review of the tuberculin tests, γ -interferon assay and other ancillary diagnostic techniques". *Research in Veterinary Science*, 81(2), pp. 190–210. DOI: 10.1016/j.rvsc.2005.11.005
- Doménech Gómez, A., Cid Vázquez, M. D., Blanco Gutierrez, M. del M., Cutuli de Simón, M. T., Díez Guerrier, A., Domínguez Bernal, G., Gibello Prieto, A., y Gómez-Lucía Duato, E. (2017). *Manual gráfico de inmunología y enfermedades infecciosas en vacuno*. Zaragoza: Servet editorial - Grupo Asís Biomedica S.L., pp 60-61. Disponible en: <https://elibro-net.cuarzo.unizar.es:9443/es/ereader/unizar/91823?page=1>. [Consultado 7-11-2022]
- Fitzgerald, S. D., Hollinger, C., Mullaney, T. P., Bruning-Fann, C. S., Tilden, J., Smith, R., Averill, J., y Kaneene, J. B. (2016). "Herd outbreak of bovine tuberculosis illustrates that route of infection correlates with anatomic distribution of lesions in cattle and cats". *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 28(2), pp. 129–132. DOI:10.1177/1040638715626484
- Good, M., y Duignan, A. (2011). "Perspectives on the history of bovine TB and the role of tuberculin in bovine TB eradication". *Veterinary Medicine International*, 2011, 410470. DOI: 10.4061/2011/410470
- Guta, S., Casal, J., Napp, S., Saez, J. L., Garcia-Saenz, A., Perez de Val, B., Romero, B., Alvarez, J., y Allepuz, A. (2014). "Epidemiological investigation of bovine tuberculosis herd breakdowns in Spain 2009/2011". *PloSone*, 9(8), e104383. DOI: 10.1371/journal.pone.0104383
- Hewison, M. (2011). "Antibacterial effects of vitamin D". *Nature Reviews. Endocrinology*, 7, pp 337-345. DOI: 10.1038/nrendo.2010.226
- Humblet, M. F., Boschioli, M. L., y Saegerman, C. (2009). "Classification of worldwide bovine tuberculosis risk factors in cattle: A stratified approach". *Veterinary Research*, 40(5). DOI:10.1051/vetres/2009033
- Juste, R. (2015). "El control de la TUBERCULOSIS bovina: 100 años de compromiso veterinario". *Badajoz Veterinaria*, 1, pp. 7–13. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7210758> [Consultado 7-11-2022]
- LEPPER, A. W. D., PEARSON, C. W., y CORNER, L. A. (1977). "Anergy to tuberculin in beef cattle". *Australian Veterinary Journal*, 53(5), pp. 214–216. DOI:10.1111/j.1751-0813.1977.tb00188.x
- Lyashchenko, K. P., Pollock, J. M., Colangeli, R., y Gennaro, M. L. (1998). "Diversity of Antigen Recognition by Serum Antibodies in Experimental Bovine Tuberculosis". *Infection and Immunity*, 66(11), pp. 5344–5349. DOI:10.1128/IAI.66.11.5344-5349.1998

- Martín-Hernando, M. P., Höfle, U., Vicente, J., Ruiz-Fons, F., Vidal, D., Barral, M., Garrido, J. M., de la Fuente, J., y Gortazar, C. (2007). "Lesions associated with Mycobacterium tuberculosis complex infection in the European wild boar". *Tuberculosis*, 87(4), pp. 360–367. DOI: 10.1016/j.tube.2007.02.003
- Menzies, F. D., y Neill, S. D. (2000). "Cattle-to-Cattle Transmission of Bovine Tuberculosis". *Veterinary Journal*, 160(2), pp. 92–106. DOI: 10.1053/tvjl.2000.0482
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA). (2008a). *Programa Nacional de Erradicación de Tuberculosis bovina presentado por España para los años 2008-2010. Presentado para su cofinanciación en 2008.* Disponible en: https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/sanidad-animal-higiene-ganadera/pnetb_2008_tcm30-111304.pdf [Consultado 17-11-2022]
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA). (2008b). *Informe final técnico-financiero Programa Nacional de la Tuberculosis Bovina año 2008.* Disponible en: https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/sanidad-animal-higiene-ganadera/informe_tb_2008_tcm30-111283.pdf [Consultado 26-11-2022]
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA).(2015). *Informe final técnico-financiero Programa Nacional de la Tuberculosis Bovina año 2015.* Disponible en: https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/sanidad-animal-higiene-ganadera/informe_tb_2015_tcm30-111276.pdf [Consultado 26-11-2022]
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA).(2018). *Informe final técnico-financiero Programa Nacional de la Tuberculosis Bovina año 2018.* Disponible en: https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/sanidad-animal-higiene-ganadera/informefinaltecnicotb2018_tcm30-522410.pdf [Consultado 26-11-2022]
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA).(2020). *Informe final técnico-financiero Programa Nacional de la Tuberculosis Bovina año 2020.* Disponible en: https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/sanidad-animal-higiene-ganadera/annexiinformefinaltecnicotb2020_tcm30-564497.pdf [Consultado 26-11-2022]
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA).(2021a). *Informe final técnico-financiero Programa Nacional de la Tuberculosis Bovina año 2021.* Disponible en: https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/sanidad-animal-higiene-ganadera/annexiinformefinaltecnicotb2021_tcm30-620940.pdf [Consultado 20-11-2022]
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA). (2021b). *Manual para el control de la infección por el CMT en establecimientos de ganado caprino incluidos en el programa nacional de erradicación de la infección por el complejo Mycobacterium tuberculosis (CMT) 2021.* Disponible en: https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/sanidad-animal-higiene-ganadera/manualcaprino2021abril_tcm30-553693.pdf [Consultado 17-11-2022]
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA). (2022). *Programa Nacional De erradicación De Tuberculosis Bovina 2022 (Infección por el complejo Mycobacterium tuberculosis).* Disponible en: https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/sanidad-animal-higiene-ganadera/programatb2022_tcm30-583922.pdf [Consultado 03-11-2022]

- Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente (MAPAMA). (2016). *Programa Nacional De Erradicación De Tuberculosis Bovina presentado por España para el año 2015-2016*. Disponible en: https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/sanidad-animal-higiene-ganadera/pnetb_2016_tcm30-111292.pdf [Consultado 17-11-2022]
- Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente (MAPAMA). (2017a). *PATUBES. Plan de Actuación sobre Tuberculosis en Especies Silvestres*. Disponible en: https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/sanidad-animal-higiene-ganadera/patubes2017_3_tcm30-378321.pdf [Consultado 10-11-2022]
- Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente (MAPAMA). (2017b). *Protocolo de actuación del componente de vigilancia de la tuberculosis bovina en el marco del programa nacional de erradicación*. Disponible en: https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/sanidad-animal-higiene-ganadera/protocolovigtbmataderos2018_tcm30-436763.pdf [Consultado: 12-11-2022]
- Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino (MARM). (2011). *Programa Nacional De erradicación De Tuberculosis Bovina presentado por España para el año 2011*. Disponible en: https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/sanidad-animal-higiene-ganadera/pnetb_2011_tcm30-111301.pdf [Consultado 17-11-2022]
- Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino (MARM). (2012). *Programa Nacional De Erradicación De Tuberculosis Bovina presentado por España para el año 2012*. Disponible en: https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/sanidad-animal-higiene-ganadera/pnetb_2012_tcm30-111300.pdf [Consultado 17-11-2022]
- Monaghan, M. L., Doherty, M. L., Collins, J. D., Kazda, J. F., y Quinn, P. J. (1994). "The tuberculin test". *Veterinary Microbiology*, 40(1), pp. 111–124. DOI: 10.1016/0378-1135(94)90050-7
- Monaghan, M. L., Quinn, P. J., Kelly, A. P., McGill, K., McMurray, C. H., O’Crowley, K., Bassett, H. F., Costello, E., Quigley, F., Rothel, J. S., Wood, P. R., y Collins, J. D. (1997). "A pilot trial to evaluate the gamma -interferon assay for the detection of *Mycobacterium bovis* infected cattle under Irish conditions". Disponible en: <https://www.semanticscholar.org/paper/A-pilot-trial-to-evaluate-the-gamma-interferon-for-Monaghan-Quinn/b452a59ec0911b75bde9c9bf3b339178e28d1f46> [Consultado: 15-11-2022]
- Muñoz Mendoza, A. (2015). "Tuberculosis animal en la España atlántica: descripción de la enfermedad en determinados hospedadores domésticos y silvestres que participan en la epidemiología de la infección". Tesis Doctoral. Universidad de Castilla-La Mancha
- Notomi, T., Okayama, H., Masubuchi, H., Yonekawa, T., Watanabe, K., Amino, N., y Hase, T. (2000). "Loop-mediated isothermal amplification of DNA". *Nucleic Acids Research*, 28(12), E63. DOI: 10.1093/nar/28.12. e63
- Oficina Internacional de Epizootias (OIE), (2018). "Manual Terrestre de la Tuberculosis Bovina". Disponible en: https://www.woah.org/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/3.04.06_BOVINE_TB.pdf [Consultado 15-11-2022]

- Oficina Internacional de Epizootias (OIE), (2019). “Zoonotic Tuberculosis in Mammals, including Bovine and Caprine Tuberculosis”. Disponible en: https://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/bovine_tuberculosis.pdf [Consultado 15-11-2022]
- Organización Mundial de Sanidad Animal (OMSA), (2022). *TUBERCULOSIS BOVINA*. Disponible en: <https://www.woah.org/es/enfermedad/tuberculosis-bovina/> [Consultado 15-11-2022]
- Pérez de Val, B. y Allepuz, A., 2019. Una mirada al pasado, presente y futuro del control de la tuberculosis bovina. Disponible en: <https://www.portalveterinaria.com/rumiantes/articulos/14208/una-mirada-al-pasado-presente-y-futuro-del-control-de-la-tuberculosis-bovina.html> [Consultado 27-11-2022]
- Pollock, J. M., y Neill, S. D. (2002). “Mycobacterium bovis infection and tuberculosis in cattle”. *Veterinary Journal*, 163(2), pp. 115–127. DOI: 10.1053/tvjl.2001.0655
- Pollock, J. M., Rodgers, J. D., Welsh, M. D., y McNair, J. (2006). “Pathogenesis of bovine tuberculosis: The role of experimental models of infection”. *Veterinary Microbiology*, 112(2), pp. 141–150. DOI: 10.1016/j.vetmic.2005.11.032
- Pollock, J. M., Welsh, M. D., y McNair, J. (2005). “Immune responses in bovine tuberculosis: Towards new strategies for the diagnosis and control of disease”. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 108(1), pp. 37–43. DOI: 10.1016/j.vetimm.2005.08.012
- Rodriguez-Campos, S., Smith, N. H., Boniotti, M. B., & Aranaz, A. (2014). “Overview and phylogeny of Mycobacterium tuberculosis complex organisms: Implications for diagnostics and legislation of bovine tuberculosis”. *Veterinary Science*, 97, pp. 5–19. DOI: 10.1016/j.rvsc.2014.02.009
- Ryan, T. J., Buddle, B. M., y De Lisle, G. W. (2000). “An evaluation of the gamma interferon test for detecting bovine tuberculosis in cattle 8 to 28 days after tuberculin skin testing”. *Veterinary Science*, 69(1), pp. 57–61. DOI: 10.1053/rvsc.2000.0386
- Sidders, B., Pirson, C., Hogarth, P. J., Hewinson, R. G., Stoker, N. G., Vordermeier, H. M., y Ewer, K. (2008). “Screening of highly expressed mycobacterial genes identifies Rv3615c as a useful differential diagnostic antigen for the Mycobacterium tuberculosis complex”. *Infection and Immunity*, 76(9), pp. 3932–3939. DOI: 10.1128/IAI.00150-08
- Souza, I. I. F., Melo, E. S. P., Ramos, C. A. N., Farias, T. A., Osório, A. L. A. R., Jorge, K. S. G., Vidal, C. E. S., Silva, A. S., Silva, M. R., Pellegrin, A. O., y Araújo, F. R. (2012). “Screening of recombinant proteins as antigens in indirect ELISA for diagnosis of bovine tuberculosis”. *SpringerPlus*, 1(1), p 77. DOI: 10.1186/2193-1801-1-77
- VISAVET Health Surveillance Center. (2022). “Mbovis.es, Mycobacterium bovis Spoligotype Database”. Disponible en: <https://www.mbovis.org/> [Consultado 10-11-2022]
- Waters, W. R., Palmer, M. v, Thacker, T. C., Bannantine, J. P., Vordermeier, H. M., Hewinson, R. G., Greenwald, R., Esfandiari, J., McNair, J., Pollock, J. M., Andersen, P., y Lyashchenko, K. P. (2006). “Early Antibody Responses to Experimental *Mycobacterium bovis* Infection of Cattle”. *Clinical and Vaccine Immunology*, 13(6), pp. 648–654. DOI: 10.1128/CVI.00061-06

- Welsh, M. D., Cunningham, R. T., Corbett, D. M., Girvin, R. M., McNair, J., Skuce, R. A., Bryson, D. G., y Pollock, J. M. (2005). "Influence of pathological progression on the balance between cellular and humoral immune responses in bovine tuberculosis". *Immunology*, *114*(1), pp. 101–111. DOI: 10.1111/j.1365-2567.2004.02003.x
- Wilkins, M. J., Bartlett, P. C., Frawley, B., Miller, C. E., Boulton, M. L., Lansing, E., y Wilkins, M. J. (2003). "Mycobacterium bovis (bovine TB) exposure as a recreational risk for hunters: results of a Michigan Hunter Survey, 2001". *The international journal of tuberculosis and lung disease: the official journal of the International Union against Tuberculosis and Lung Disease*, *7*(10), pp. 1001–1009. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14552572/> [Consultado 9-11-2022]
- Zhang, J., Zhang, G. H., Yang, L., Huang, R., Zhang, Y., Jia, K., Yuan, W., y Li, S. J. (2011). "Development of a loop-mediated isothermal amplification assay for the detection of Mycobacterium bovis". *Veterinary Journal*, *187*(3), pp. 393–396. DOI: 10.1016/j.tvjl.2010.01.001
- Zhu, X., Zhao, Y., Zhang, Z., Yan, L., Li, J., Chen, Y., Hu, C., Robertson, I. D., Guo, A., y Aleri, J. (2022). "Evaluation of an ELISA for the diagnosis of bovine tuberculosis using milk samples from dairy cows in China". *Preventive Veterinary Medicine*, *208*, 105752. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2022.105752